

Série A, n° 559
N° D'ORDRE
1285

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Mademoiselle Ch. PHILOCHE

PRÉPARATEUR A L'ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE DE SÈVRES

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES PHYSICO-CHIMIQUES SUR L'AMYLASE
ET LA MALTASE

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

6 Mars

~~février~~ 1908 devant la Commission
d'examen.

MM. G. BONNIER, *Président.*

DASTRE,

HAUG,

} *Examineurs.*

GENÈVE

IMPRIMERIE W. KÜNDIG & FILS, VIEUX-COLLÈGE 4.

1908

2. 100

Série A, n° 559
N° D'ORDRE
1285

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Mademoiselle Ch. PHILOCHE

PRÉPARATEUR A L'ÉCOLE NORMALE SUPÉRIEURE DE SÈVRES

- 1^{re} THÈSE.** — RECHERCHES PHYSICO-CHIMIQUES SUR L'AMYLASE
ET LA MALTASE
- 2^e THÈSE.** — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

6 Mars

~~février~~ 1908 devant la Commission
d'examen.



MM. G. BONNIER, *Président.*

DASTRE,
HAUG,

} *Examineurs.*

GENÈVE

IMPRIMERIE W. KÜNDIG & FILS, VIEUX-COLLÈGE 4.

1908

Extrait du *Journal de Chimie-Physique*, Tome VI, 1908.

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen P. APPELL, **Professeur**, Mécanique rationnelle.

Doyen honoraire G. DARBOUX, — Géométrie supérieure.

**Professeurs
honoraires** {

L. TROOST.

CH. WOLF.

RIBAN.

LIPPMANN Physique.

BOUTY Physique.

BOUSSINESQ... Physique mathém. et calcul des probabilités.

PICARD..... Analyse supérieure et algèbre supérieure.

H. POINCARÉ... Astronomie mathém. et mécanique céleste.

Y. DELAGE Zoologie, anatomie, physiologie comparée.

G. BONNIER..... Botanique.

DASTRE..... Physiologie.

DITTE..... Chimie.

GIARD Zoologie, Évolution des êtres organisés.

KENIGS..... Mécanique physique et expérimentale.

VÉLAIN Géographie physique.

GOURSAT..... Calcul différentiel et calcul intégral.

CHATIN..... Histologie.

Professeurs {

PELLAT..... Physique.

HALLER..... Chimie organique.

JOANNIS Chimie (Enseignement P. C. N.).

JANET..... Physique — —

WALLERANT... Minéralogie.

ANDOYER Astronomie physique.

PAINLEVÉ Mathématiques générales.

HAUG..... Géologie.

TANNERY..... Calcul différentiel et calcul intégral.

RAFFY Application de l'analyse à la géométrie.

HOUSSAY..... Zoologie.

LE CHATELIER. Chimie.

N..... Zoologie, anatomie, physiologie comparée.

N..... Physique.

N..... Chimie biologique.

PUISEUX Mécanique et astronomie.

LEDUC Physique.

HADAMARD..... Calcul différentiel et calcul intégral.

MATRUCHOT... Botanique.

**Professeurs-
adjoints** {

MICHEL..... Minéralogie.

DAGUILLON... Botanique.

BOUVEAULT ... Chimie organique.

BOREL..... Théorie des fonctions.

PRUVOT Anatomie comparée.

CAULLERY..... Évolution des êtres organisés.

Secrétaire

A. GUILLET.

A mes Maîtres :

Monsieur Dastre

Membre de l'Institut
Professeur de Physiologie à la Sorbonne.

Monsieur Félix Le Dantec

Chargé de cours à la Sorbonne.

Monsieur Victor Henri

Maître de Conférences à l'Ecole des Hautes Etudes.

Témoignage de profonde reconnaissance.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

RECHERCHES PHYSICO-CHIMIQUES SUR L'AMYLASE ET LA MALTASE

PRÉFACE

Le travail présent fait partie d'un ensemble de recherches entreprises depuis plusieurs années au Laboratoire de Physiologie expérimentale à la Sorbonne, dans le but d'élucider le mécanisme d'action d'un certain nombre de substances, élaborées par les êtres vivants, telles que les diastases et les sérums, et qui ont, entre autres, le caractère commun d'être à l'état colloïdal.

L'étude des diastases peut être faite à deux points de vue différents : le premier se rattache à la question de la spécificité des diastases ; il comporte une étude chimique précise des corps sur lesquels elles peuvent agir et des produits que font apparaître leur action. C'est la voie qu'ont illustrée Emil Fischer, Bourquelot, Bertrand et leurs collaborateurs.

Le second point à étudier consiste à rechercher les lois suivant lesquelles agissent les diastases. Les idées théoriques émises par les auteurs à ce sujet diffèrent essentiellement les uns des autres : les uns pensent que les diastases élaborées par les êtres vivants sont, comme ces derniers, entièrement à part dans la Nature, soumises à des lois spéciales, *sui generis*. Les autres sont au contraire d'avis qu'une étude minutieuse et détaillée des

actions diastasiques doit permettre de les rapporter à un ensemble de processus d'ordre physico-chimique. L'avantage évident de cette seconde hypothèse est de suggérer immédiatement l'expérimentation.

1° Les actions diastasiques sont des phénomènes qui ont une certaine *durée*, il faut donc en faire une étude cinétique par les méthodes employées en chimie-physique, méthodes qui ont donné de si remarquables résultats pour la connaissance du mécanisme intime de certaines réactions. L'allure des courbes que l'on obtiendra en combinant les expériences de différentes façons permettra de *classer* les réactions diastasiques, de voir par où elles s'approchent, par où elles s'éloignent d'autres déjà connues.

2° A côté de cette étude cinétique vient se placer naturellement celle qui découle du fait que les diastases sont des *colloïdes*. Elles ont par ce fait tout un ensemble de propriétés spéciales dont la connaissance se rattache étroitement à celle des substances colloïdales en général.

Guidée par ces deux derniers ordres de considérations, j'ai entrepris l'étude de deux diastases, l'amylase et la maltase, en insistant sur les points par lesquels les actions diastasiques semblaient se classer comme des phénomènes à part. Nous verrons dans la conclusion de ce travail que cette méthode s'est montrée très féconde puisqu'elle a permis de voir que toutes les particularités rencontrées dans les réactions dues aux diastases s'expliquent par des phénomènes tels que l'« adsorption » et la « diffusion » qui n'empruntent rien à l'« activité vitale ».

En somme, une hydrolyse diastasique n'est pas simple, elle n'est pas semblable à celle que produit un acide, mais elle ne rentre pas moins dans la catégorie des phénomènes physico-chimiques.

Ce travail, commencé en 1903, a été fait au Laboratoire de Physiologie expérimentale à la Sorbonne. Au moment de présenter cette thèse à la Faculté des Sciences je suis heureuse

d'adresser l'expression émue de ma reconnaissance à tous les Maîtres qui m'ont aidée de leur appui et de leur sympathie.

J'ai reçu au Laboratoire de Physiologie de la part de M. le Professeur Dastre, un accueil que je ne saurais oublier. Je le remercie bien vivement de ses précieux conseils et de la bienveillance qu'il a toujours eue à mon égard.

M. Victor Henri m'a guidée pas à pas dans cette étude difficile, me faisant profiter de sa grande compétence dans ces questions. Je serais heureuse si j'avais pu réaliser une partie du travail qu'il jugeait utile et apporter ainsi une petite part expérimentale pour la résolution de nombreux problèmes qui le préoccupent. Je sais que c'est la meilleure manière de le remercier de son aide constante.

Je voudrais aussi dire à M. Félix Le Dantec combien je lui suis profondément reconnaissante de m'avoir toujours prodigué sans compter son appui et ses bontés. Il voulut bien porter son attention sur moi dès 1902 presque au début de mes études à la Sorbonne, m'engagea à les pousser plus loin que je n'aurais osé l'espérer et depuis fut prêt à m'aider dans toutes les difficultés que j'ai rencontrées. Grâce à son initiative, à l'appui de M. Gaston Bonnier, de M. Curie, de M. Dastre, je fus nommée boursière d'études à la Sorbonne et mise ainsi dans la possibilité de faire les recherches que je présente aujourd'hui. M. Liard, Vice-Recteur de l'Académie de Paris, M. P. Appell, Doyen de la Faculté des Sciences et M. Darboux, Doyen honoraire, en permettant que cette faveur me soit continuée trois années, m'ont marqué une bienveillance dont je suis fière et confuse à la fois. Qu'il me soit permis d'exprimer à tous ces Maîtres de l'Université la sincère gratitude que leur a une femme qui sans eux n'eut rien pu.

Paris, le 20 décembre 1906.

CHAPITRE I. — INTRODUCTION GÉNÉRALE

DÉVELOPPEMENT DES CONNAISSANCES SUR LES FERMENTS
SOLUBLES.

La connaissance des phénomènes diastasiques débuta par la découverte des propriétés remarquables de certains liquides de l'organisme. Les premières observations relatives à ce sujet peuvent être rapportées à Réaumur (1752), puis à Spallanzani (1777) qui montrèrent que la transformation de la viande dans l'estomac était due à un suc sécrété par cet organe. Plus d'un demi-siècle s'écoula avant que Schwann (1836) ne découvrit l'existence dans ce suc d'un principe actif, la pepsine, qui fut isolée par Wasmann en 1839.

A peu près à la même époque Leuchs (1831), puis Mialhe (1845) trouvèrent dans la salive une substance qui transforme l'amidon; substance qui avait déjà été découverte dans l'orge germée et étudiée par Kirchhoff en 1811.

En 1844 Valentin, Bouchardat et Sandras voient que le suc pancréatique agit aussi sur l'amidon, tandis que Claude Bernard montre son action sur les graisses (1849) et enfin Corvisart (1857) celle sur les albuminoïdes.

On donna le nom d'*enzymes*, *diastases* ou *ferments solubles*, à ces corps capables de transformer tout un ensemble d'autres corps, transformations qui sont parfois très difficiles à réaliser par des méthodes différentes.

Dès le début des études sur les diastases on avait aperçu leurs caractères essentiels.

Le premier fait qui frappa les observateurs fut *la spécificité de ces ferments*.

On a en effet distingué tout de suite différents groupes de

diastases suivant les substances sur lesquelles elles agissent quoique en fait leur action ait une très grande ressemblance et se ramène à une hydrolyse, pour les actions diastasiques connues à cette époque. On distingua ainsi une *diastase* (amylase) qui hydrolyse l'amidon ; une *invertine* qui agit de même sur le saccharose, une *maltase*, une *lactase*, etc., marquant bien par là qu'il y a une différence profonde entre ces agents qui produisent une action parallèle. C'est là en effet un des caractères qui distinguent l'action des diastases de l'action des autres corps, tels que les acides capables de produire aussi des hydrolyses. Ces acides agissent aussi bien sur l'amidon que sur le saccharose, le maltose, etc., et produisent partout une hydrolyse.

Un deuxième fait aperçu aussi depuis longtemps fut la *disproportion entre la quantité de diastase employée et la quantité de substance transformée*. Payen et Persoz insistent sur ce fait « qu'une partie en poids de leur diastase peut en quelques minutes, liquéfier 2000 parties d'empois d'amidon. »

De même on sait qu'une petite quantité de présure peut coaguler des quantités de lait énormes. On arrive à produire des présures qui à 35°, en 40', coagulent 10, 15 et 18,000 fois leur poids de lait ¹.

J'ai opéré moi-même sur une amylase qui était encore active à la dilution de 1 gr. par 1000 litres.

Un troisième fait signalé aussi depuis longtemps relativement aux propriétés des diastases, c'est qu'elles *ne dialysent pour ainsi dire pas*. L'étude détaillée de cette propriété faite par Arthus, Hammarsten, Nikita et Chodschafew a montré que les ferments solubles ne dialysent qu'avec une lenteur extrême.

Cette propriété des diastases a toujours été soulignée à cause des conséquences physiologiques qu'elle comporte. En effet les ferments solubles sont élaborés dans les cellules et puisqu'ils ne

¹ Duclaux. Traité de Microbiologie. Tome II.

peuvent traverser les membranes leur action devra se localiser à l'intérieur de ces cellules.

Certains ferments même ne dialysent pas du tout; ils ont été appelés *endo-cellulaires*. Comme exemples classiques citons l'*amylase hépatique*, et la *zymase* de Büchner. On ne put mettre en évidence l'existence de ces ferments *in vitro* qu'en employant des traitements mécaniques et chimiques très énergiques. Büchner employa le broyage de la levure de bière, suivi d'une expression du liquide cellulaire sous une pression de 800 atmosphères. Dastre indiqua un moyen de rendre la membrane perméable aux ferments *endo-cellulaires* par l'emploi de poisons ou d'anesthésiques, par exemple de vapeurs de chloroforme (méthode de la dialyse chloroformique de Dastre).

C'est donc à ce point de vue purement physiologique qu'on avait fait ressortir l'*état colloïdal* des diastases. C'est seulement dans ces dernières années, surtout grâce à l'impulsion donnée par Bredig, qu'on a commencé à rapprocher l'action des diastases des actions chimiques produites par les *colloïdes*.

Cet aperçu rapide des notions acquises sur les diastases nous permet d'en donner une définition générale. Elle a été proposée pour la première fois par Victor Henri et présente l'avantage de servir de guide dans leur étude.

Définition des diastases : LES DIASTASES SONT DES CATALYSATEURS, COLLOÏDAUX, SPÉCIFIQUES. Il est important de s'arrêter sur chacun de ces caractères et d'en tirer un certain nombre de conclusions.

§ 1. — Les diastases sont des catalysateurs.

Le rapprochement des actions catalytiques et des actions diastasiques a été fait depuis longtemps. Berzelius, introduisant en 1836 le nom d'actions catalytiques, réunissait sous ce nom une série d'actions chimiques très variées parmi lesquelles nous trouvons l'hydrolyse de l'amidon par l'acide sulfurique et par l'extrait

de malt; les expériences de Thénard sur la décomposition de l'eau oxygénée par le platine, les observations de Davy relatives à l'action du platine sur un mélange d'hydrogène et d'oxygène; enfin les expériences de Mitscherlich relatives à la transformation de l'alcool en éther sous l'influence de l'acide sulfurique.

Ce rapprochement des actions catalytiques et des actions diastatiques s'est précisé de plus en plus surtout dans ces dernières années. On a vu, en effet, qu'un certain nombre de propriétés appartenaient en commun aux catalyseurs et aux diastases.

Rappelons brièvement les propriétés générales des catalyseurs.

1^{re} PROPRIÉTÉ : *Disproportion entre la quantité de catalyseurs et la masse des corps transformés*¹ :

Le caractère commun à toutes les actions catalytiques est le fait déjà observé en 1806 par Clément et Désorme qu'une quantité donnée de catalyseur peut provoquer la transformation de masses très considérables des corps entre lesquels se produit la réaction. Deux cas peuvent se présenter :

1^{er} cas. *Le catalyseur se retrouve intact à la fin de la réaction* donc la quantité de substance qui peut être transformée est théoriquement illimitée. Telles sont, par exemple, l'hydrolyse par un acide, l'action du platine colloïdal sur l'eau oxygénée ou sur un mélange hydrogène + oxygène, etc.

2^{me} cas. *Le catalyseur subit des modifications au cours de la catalyse.* Telle est, par exemple, l'action d'une lame de platine sur $H^2 + O^2$. C'est dans cette catégorie de catalyseurs qu'on doit ranger les diastases. La plupart perdent pendant la réaction une partie de leur activité.

2^{me} PROPRIÉTÉ : *Lorsque la réaction qui se produit en présence du catalyseur donne lieu à un équilibre, la présence du catalyseur ne change pas la position de cet équilibre.*

¹ Pour plus de développement consulter VICTOR HENRI, *Lois générales de l'action des diastases*, 1902, Paris.

Cette règle que l'on peut déduire théoriquement des considérations sur l'impossibilité du mouvement perpétuel, a été vérifiée un grand nombre de fois. Citons comme exemple l'équilibre qui s'établit entre l'acide iodhydrique, l'iode et l'hydrogène, en présence de platine (catalysateur) et sans platine (exp. de Lemoine et Hautefeuille).

Cette propriété des catalysateurs a une grande importance pour l'étude des diastases à deux points de vue différents. 1° Certaines diastases donnent lieu à des réactions incomplètes : on peut imaginer entre autres hypothèses que cet arrêt est dû à la production d'un équilibre. Dans ce cas, d'après la loi de Guldberg et Waage la diastase qui agit comme catalysateur sur la décomposition d'un corps doit aussi en accélérer la synthèse à partir de ses produits de dégradation. Théoriquement, on peut concevoir la synthèse d'un sucre, *à partir des produits d'hydrolyse de ce sucre*, par l'action d'une diastase. On sait que, Croft Hill pense ainsi avoir réalisé la synthèse du maltose à partir du glucose; Emmerling et E. Fischer celle de l'amygdaline par l'action de l'émulsine.

Le fait que le catalysateur ne change pas la position de l'équilibre élimine *à priori* toute une série d'hypothèses qui ont été faites sur la nature de son action. On ne pourra l'assimiler à une élévation de température, ni à une augmentation de pression, agents qui déplaceraient l'équilibre.

Enfin Gibbs et Le Chatellier, Van t'Hoff ont établi, d'après les principes de la Thermodynamique, que les réactions catalytiques ne sont pas forcément exothermiques. Donc les diastases étant des catalysateurs, les réactions auxquelles elles donnent lieu ne se passeront pas nécessairement avec dégagement de chaleur comme le pensaient Duclaux et Oppenheimer.

3^{me} PROPRIÉTÉ : a) *Lorsque le catalysateur agit par simple présence la loi de la réaction n'est pas changée.*

b) *Lorsque le catalysateur subit des modifications au cours de*

la réaction (Autocatalyse ou catalyse avec formation de composés intermédiaires), la courbe de vitesse de la réaction peut être complètement modifiée par la présence du catalysateur, mais *cette modification n'amène pas une contradiction avec les lois de la chimie générale*. La discussion mathématique montre que l'on doit tenir compte d'un plus grand nombre de facteurs. Il n'en reste pas moins vrai que, pour les cas où on a affaire à un processus chimique entièrement connu, on voit que chaque réaction partielle suit les lois de la chimie générale, quoique la résultante de ces réactions n'ait pas pu au premier abord être expliquée par une loi simple. Ce résultat est important pour l'étude des diastases. En effet certains auteurs ayant trouvé que l'inversion du saccharose par l'invertine se produit suivant une loi différente de celle des acides, en avaient déduit que les réactions diastasiques obéissaient à des lois *à part* dans la Nature avec tous les phénomènes vitaux.

§ 2. — Les diastases sont des colloïdes.

La preuve principale de cette affirmation, donnée déjà depuis longtemps comme nous l'avons dit, c'est que les diastases ne dialysent pas ou dialysent très lentement.

Ce caractère est commun à tous les colloïdes comme l'a montré Graham.

Dans ces dernières années on a apporté d'autres preuves de l'état colloïdal des solutions diastasiques.

1° *Transport électrique*. Bierry, Schæffer, V. Henri, Grüber, et d'autres auteurs ont vu que les diastases présentent le phénomène bien connu de transport électrique commun à tous les colloïdes. Les granules de la plupart des diastases se portent vers l'anode, c'est-à-dire qu'ils sont chargés négativement ; ceux de l'amylase du suc pancréatique vont vers la cathode, ils sont donc positifs.

Ces expériences sur le transport électrique des diastases sont

intéressantes puisqu'elles apportent un argument nouveau en faveur de l'idée que les diastases sont des colloïdes ; mais on ne peut pas attacher une importance considérable au signe électrique qui a été trouvé. En effet les recherches récentes de Paoli, Hardy, Iscovesco, Mayer ont montré que les colloïdes stables comme les albuminoïdes sont de signe très variable. A l'état bien pur, très soigneusement dialysés, plusieurs de ces colloïdes ne semblent pas avoir de signe électrique, mais ils prennent un signe + ou — en présence de différents électrolytes. Une fois ce signe obtenu il est très difficile de les en débarrasser, on n'y arrive qu'après plusieurs mois de purification par dialyse.

2^o *Observation à l'ultra-microscope.* Behring, Michaels, Gaïdukow, etc.¹, ont vu que les solutions diastasiques contiennent des granules visibles à l'ultra-microscope et par conséquent sont bien des solutions colloïdales.

Il en résulte pour les diastases tout un ensemble de propriétés qui sont les propriétés des colloïdes en général et qu'il est essentiel de rappeler ici.

1^{re} PROPRIÉTÉ : Les solutions de diastases sont formées de *granules ultra-microscopiques* en suspension dans un liquide. Il est difficile d'apprécier la grosseur de ces granules mais par analogie avec les mesures faites sur l'amidon et d'autres colloïdes par Zsigmondy et d'autres auteurs on peut admettre que leur diamètre est compris entre $\frac{1}{10}$ et $\frac{1}{100}$ de μ .

2^{me} PROPRIÉTÉ : *Ces granules sont chargés + ou — suivant les cas.* Pour déterminer ce signe on peut faire usage de deux procédés.

a) Examiner le *sens du « transport électrique »* de solutions bien dialysées.

b) Etudier les *conditions de précipitation des colloïdes entre*

¹ Voir le travail de SIEDENTOFF, *Sur la littérature ultra-microscopique*, Zeits. f. Chemie u. Industrie der Kolloide, Décembre, 1906, p. 173.

eux. On sait en effet qu'un colloïde + précipite par l'addition d'un colloïde — et inversement.

Cette propriété a permis à *Iscoresco* de montrer que la pep-sine est un colloïde + et la trypsine un colloïde —.

Il est essentiel de faire toutes ces réactions sur des solutions dialysées pendant un mois au moins.

3^{me} PROPRIÉTÉ : *Les électrolytes exercent des actions très nettes sur les granules colloïdaux.*

Ces actions sont de deux sortes :

α. Adsorption. — Lorsqu'on met un résidu sec ou un précipité colloïdal en présence d'eau ou d'une solution d'électrolytes, une certaine partie de l'eau ou de la solution est retenue par le colloïde. Il est ensuite extrêmement difficile de l'en séparer. On a donné à ce phénomène dans le cas de l'eau le nom d'inbibition et dans le cas d'autres corps le nom d'« adsorption ». Le « composé d'adsorption » ainsi formé est remarquable en ce que c'est une combinaison en proportions variables. La quantité de substance qui pénètre dans le granule dépend de toute une série de facteurs étudiés par Van Bemmelen et Biltz, parmi lesquels rentrent : 1° la structure, la composition chimique du colloïde adsorbant et toutes les modifications qu'il a pu subir pendant sa préparation ou du fait du temps. 2° La composition chimique et la concentration du corps adsorbé.

Ces combinaisons d'adsorption sont soumises à certaines lois qui ne sont pas encore complètement dégagées. Dans tous les cas étudiés jusqu'ici, surtout par *Biltz*, *Van Bemmelen*, *Freundlich*, etc., on trouve que *si on augmente la concentration de la substance dissoute, la quantité de substance adsorbée augmente d'abord rapidement, puis de moins en moins vite.*

Si on représente par c_1 la concentration dans le liquide intergranulaire, et par c_2 la concentration dans la « zone d'adsorption », ces deux concentrations sont reliées entre elles par la formule $c_1 = Kc_2$.

On peut représenter graphiquement ce résultat en portant en abscisses les valeurs de c_1 et en ordonnées les valeurs de c_2 . On obtient une courbe parabolique, « courbe d'adsorption » qui tourne sa concavité vers les abscisses.

Nous aurons à observer un parallélisme remarquable entre cette « courbe d'adsorption » et la courbe qui représente l'influence de la concentration en substance à transformer sur l'hydrolyse des sucres ou de l'amidon par les diastases. Ce rapprochement est de nature à donner des indications précieuses sur le mécanisme des actions diastasiques.

β. Les électrolyses agissent sur les colloïdes en les précipitant. La quantité d'électrolyte nécessaire pour précipiter les colloïdes est plus ou moins grande suivant les cas et amène à la distinction en *colloïdes stables* et *colloïdes instables*. Les diastases sont des colloïdes stables comme les albuminoïdes en général.

4^{me} PROPRIÉTÉ : *Action des colloïdes les-uns sur les-autres.*

Plusieurs cas doivent être distingués.

α. Les colloïdes ajoutés sont de même signe, l'un est stable, l'autre instable. Le colloïde stable stabilise le colloïde instable. L'action est d'autant plus marquée qu'on ajoute davantage de colloïde stable.

β. Les colloïdes ajoutés sont de signe opposé. Si les solutions sont concentrées, on observe une précipitation qui passe par un maximum pour une proportion des deux colloïdes. De chaque côté de ce maximum la précipitation n'est que partielle. La position du maximum varie beaucoup suivant la nature du colloïde.

Si les solutions sont diluées, souvent il n'y a pas de précipité, mais la stabilité du complexe formé vis-à-vis des électrolytes passe par un minimum à mesure qu'on ajoute le colloïde — au colloïde + et augmente ensuite. Ces complexes tendent à prendre les propriétés du colloïde en excès soit pour le transport électrique, soit pour la précipitation par les électrolytes.

Les conséquences de ces propriétés sont extrêmement importantes en ce qui concerne les diastases. Jean Perrin, d'après ces

considérations, a émis l'hypothèse « qu'une diastase pourrait bien être fréquemment formée par un colloïde minéral instable exerçant toutes les catalyses qui caractérisent la diastase, protégée contre la coagulation par un colloïde stable¹. »

D'un autre côté on pourra « sensibiliser une diastase par tous les moyens qui augmentent sa précipitabilité, tels que l'addition de certains électrolytes ou l'action de certaines radiations.

Il est probable que par là s'explique le rôle des « alexines » d'une part et de « sensibilisatrices » d'autre part, dont le rôle avait d'abord paru si mystérieux en pathologie expérimentale.

§ 3. — Les diastases sont spécifiques.

Les diastases sont spécifiques, c'est-à-dire que ce sont des agents capables de transformer, à l'exclusion de tout autre, une catégorie de corps pourvu qu'ils aient une parenté étroite au point de vue stéréochimique. Ce fait est entré dans la science après les découvertes remarquables de *E. Fischer* sur l'hydrolyse par les diastases des sucres et des glucosides de synthèse.

Fischer² montra en 1888 que de deux méthyl-glucosides stéréoisomères α et β , qui ne diffèrent que par la position du groupe méthoxyle du carbone devenu asymétrique, l'un α est hydrolysé par l'invertine et l'autre β par l'émulsine. L'action de ces deux diastases est donc liée à la structure stéréochimique de ces corps.

Ce fait étant établi, Fischer rangea dans la série α tous les dérivés du glucose qui sont hydrolysés par l'invertine et dans la série β tous ceux qui, n'étant pas dédoublés par l'invertine, le sont par l'émulsine. On a ainsi :

<i>série α.</i>	<i>série β.</i>
méthylglucoside α .	méthylglucoside β .
éthylglucoside α .	lactose.
saccharose.	
amygdaline.	

¹ JEAN PERRIN, *Mécanisme de l'électrisation de contact*, J. Ch. phys., 1904-05.

² FISCHER ET THIERFELDER. Ber. d. deutsch Ges., vol. XXVII, p. 2036.

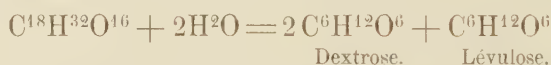
Les glucosides dérivés de sucres autres que le glucose ordinaire ne sont dédoublés par aucun de ces deux ferments. Tels sont les galactosides, les rhamnosides, les arabinosides.

On a donc bien affaire à une action spécifique dans laquelle la constitution stéréochimique des corps tient le premier rang.

Depuis ce travail de Fischer un certain nombre d'études nouvelles ont apporté des faits qui précisent encore mieux la notion de spécificité des diastases.

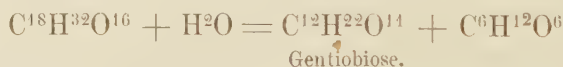
Tels sont les travaux sur l'hydrolyse du gentianose et du lactose ; sur la production du Sorbose.

Bourquelot et Herissey montrèrent en effet que le gentianose, sucre extrait de la racine de gentiane $C^{18}H^{32}O^{16}$, mis en présence du liquide fermentaire de l'*Aspergillus niger*, se transforme en donnant :



On aurait pu croire qu'on avait affaire à un seul ferment qui hydrolysait complètement ce sucre.

Il n'en est pas ainsi. Si on met ce gentianose en présence de l'invertine il subit une première dislocation, une molécule de lévulose se détache et il reste un sucre en C^{12} appelé par les auteurs gentiobiose.



Pour que l'hydrolyse se complète, il faut faire intervenir un nouveau ferment sur ce gentiobiose, ce nouveau ferment est l'émulsine qui le transforme en deux molécules de dextrose.



Donc pour hydrolyser le gentianose, et cette conséquence paraît devoir s'étendre aux polysaccharides, plusieurs ferments sont nécessaires. Ici pour un corps composé de trois molécules, il nous en faut deux qui sont l'invertine et l'émulsine ou tout au moins un ferment contenu dans l'émulsine des amandes.

« Ce n'est pas tout, nos expériences montrent que les actions fermentaires ne sont pas simultanées, celle de l'invertine devant précéder celle de l'émulsine. » Si on ajoute une autre remarque de Bourquelot que les quatre polysaccharides actuellement connus qui peuvent être hydrolysés par l'invertine (saccharose, raffinose, mannose et gentianose) contiennent tous une molécule de lévulose qui est détachée par l'action de ce ferment on voit que le phénomène prend une allure générale et il semble qu'on puisse le définir ainsi.

« Seuls les polysaccharides renfermant une molécule de lévulose reliée à 1^{mol} de glucose de la même façon que dans le saccharose sont attaqués par l'invertine et cela avec décrochement du lévulose ¹. »

Enfin dernièrement dans un travail magistral on sait qu'Emil Fischer a réussi à réaliser la synthèse d'un certain nombre de corps azotés voisins des peptones et qu'il appelle des polypeptides. « En faisant agir le suc pancréatique sur ces polypeptides on aperçoit une spécificité analogue à celle dont nous venons de parler à propos des sucres. C'est ainsi que le suc pancréatique hydrolyse l'un de ces polypeptides, l'alanylglycine, tandis que son isomère la glycyalanine ne l'est pas. Le radical alanyle paraît facilement détachable, le radical leucyle étant au contraire très solide.

Enfin la configuration stéréoisomérique doit aussi jouer un rôle. Fischer et Bergell ont signalé antérieurement une action de la pancréatine commerciale qui est instructive à cet égard. Elle agit sur la leucylalanine préparée avec les deux produits inactifs et par conséquent formée d'un mélange des racémiques en fournissant un mélange de leucines droite et gauche et de *d*-alanine. La *l*-leucine y est cinq fois plus abondante que la *d*-leucine ce qui implique évidemment un choix dans l'attaque des

¹ BOURQUELOT et HÉRISSEY, Comptes rendus Acad. d. Sciences, 1902, page 401.

dipeptides. Les renseignements à cet égard sont encore trop peu abondants pour permettre d'en tirer des conclusions un peu générales, mais il n'est pas impossible que ces études jettent un jour nouveau sur certaines questions. Par exemple l'action plus ou moins intense des diastases protéolytiques sur les divers albuminoïdes peut tenir à la configuration stéréochimique de ceux-ci. De même que parmi les sucres fermentescibles et assimilables, glucose, mannose, fructose, galactose, ce sont seulement les isomères de la série droite qui peuvent servir à la nutrition des êtres vivants, on entrevoit la possibilité que des faits analogues interviennent dans les phénomènes d'assimilation des substances protéiques ou dans la résistance de certains tissus aux actions digestives ¹. »

L'ensemble de ces études montre donc une spécificité des diastases, spécificité qui se précise de plus en plus quand on pénètre davantage dans les détails.

Il résulte de cet aperçu que les trois caractères annoncés précédemment : Les diastases sont des catalysateurs, colloïdaux, spécifiques, se trouvent pleinement justifiés.

Le problème de l'étude des diastases peut dès lors être envisagé à deux points de vue essentiels : On peut se demander quelle sera leur loi d'action comme catalysateurs colloïdaux, ou chercher à étendre et à préciser la question de la spécificité. C'est du premier de ces points de vue que je me suis surtout occupée.

BUT DU TRAVAIL.

Le fait que les diastases sont des colloïdes entraîne les conséquences suivantes : 1° toute action diastasique se passe en milieu micro-hétérogène ; 2° la diastase forme avec le corps à transformer des « composés d'adsorption, » qui sont certai-

¹ PIERRE THOMAS, *La chimie des substances protéiques*, Revue des idées, 1906.

nement différents suivant que la diastase agit sur un cristalloïde ou sur un colloïde.

Le but de ce travail était d'étudier en tenant compte de ces considérations essentielles :

- 1° l'action d'une diastase sur un cristalloïde ;
- 2° l'action d'une autre diastase sur un colloïde.

J'ai choisi :

- 1° l'hydrolyse du maltose par la maltase ;
- 2° l'hydrolyse de l'amidon et du glycogène par l'amylose animale ou végétale.

Les raisons de ce choix sont les suivantes :

1° Dans l'hydrolyse du maltose par la maltase le seul produit de la réaction est du glucose. Nous n'avons donc en présence que trois corps : maltase, maltose et glucose, et l'étude paraît par là même facilitée. En effet, les autres actions diastatiques du même groupe, telles que l'hydrolyse de saccharose donnent naissance à deux sucres, glucose et lévulose et chacun agit à sa façon sur la marche de la réaction ainsi que l'a montré Victor Henri. Le problème est donc ici plus compliqué et comme les recherches sur les diastases sont suffisamment ardues par elles-mêmes, il vaut mieux s'adresser aux cas simples, pour ainsi dire schématiques.

Le second groupe de diastases à étudier ne me laissait guère l'embarras du choix. La chimie des albuminoïdes, en progrès rapides, ne permet pas pourtant de suivre avec précision la vitesse d'apparition ou de décomposition des différents stades de l'hydrolyse par les diastases. Il ne restait que la réaction de l'amylose sur l'amidon et le glycogène dans laquelle la vitesse d'apparition du maltose peut, sous certaine réserve, servir de mesure à la vitesse de la réaction.

CHAPITRE II — RECHERCHES SUR LA MALTASE

HISTORIQUE.

Les recherches systématiques sur l'action de la maltase sont fort peu nombreuses. E.-F. Armstrong¹ publia en 1904 un mémoire intitulé « Studies on Enzyme Action » dans lequel il expose le résultat de ses recherches ayant porté sur la maltase et la lactase. D'après ce travail, la vitesse d'action de la maltase et de la lactase sont moins rapides que ne l'indique la loi logarithmique. Mes expériences personnelles m'ont amené, comme nous le verrons plus loin, à un résultat tout à fait opposé. Cette différence tient certainement au ferment employé. E.-F. Armstrong dit qu'au bout de quelques heures ses solutions devenaient troubles et que l'hydrolyse était alors très lente. Comme on ne trouve nulle part dans son mémoire la preuve que le ferment conservait la même activité pendant toute la durée de la réaction, il est à penser que le résultat trouvé par E.-F. Armstrong vient précisément de ces altérations qui se produisaient dans les solutions. D'autre part cet auteur étudie l'action des produits de la réaction, il trouve que le glucose n'a pas d'action sur la lactase, mais retarde beaucoup l'action de l'émulsine et de la maltase.

Le lévulose n'aurait aucune action sur la maltase, la lactase et l'émulsine.

Victor Henri avait trouvé précédemment que le glucose retarde peu l'action de l'invertine, tandis que le lévulose la ralentit considérablement.

Armstrong déduit de ses résultats une théorie de l'action des ferments. Disons tout de suite que cette théorie ne permet pas

¹ E. F. Armstrong, Proc. of the roy. Soc. London 1904.

d'établir une équation qui puisse être appliquée à l'étude des ferments.

A un autre point de vue on sait quel retentissement eurent les mémoires de Croft Hill¹ annonçant qu'il était parvenu à faire la « synthèse par les ferments. » Mettant une solution de maltase en présence d'une solution concentrée de glucose il obtenait un sucre de synthèse, maltose ou isomaltose, du reste très difficile à caractériser avec précision.

Emmerling², Armstrong et Fischer³, étudiant à ce point de vue l'action de la lactase, de l'émulsine et de la maltase, aboutissent aussi à cette conclusion que dans certaines conditions il peut y avoir action synthétique.

E.-F. Terroine poursuivait en même temps que moi au laboratoire de Physiologie à la Sorbonne des recherches sur l'influence de la concentration en maltose sur l'action de la maltase. Il trouve que pour des concentrations faibles en maltose la vitesse initiale de la réaction croît quand on augmente la concentration de ce sucre. Nous reviendrons plus loin sur ces résultats.

On voit que malgré les nombreuses recherches dont les diastases ont fait l'objet, il en est fort peu qui se rapportent à une étude systématique de la maltase. C'est pourquoi nous avons cru utile de reprendre complètement la question.

MÉTHODE EXPÉRIMENTALE.

Les expériences ont été faites à la température de 39° ou de 40°. La pratique nous a montré que pour chaque expérience il est absolument indispensable de maintenir la température bien constante, ce que j'ai pu réaliser en me servant d'un « thermostat d'Ostwalt. »

¹ CROFT HILL, Journ. Chem. Soc. Transactions, 1898. 1901. 1903.

² EMMERLING, Bericht d. deutsch. Chem. Ges. 1901, pages 600 et 2206.

³ E. F. ARMSTRONG et E. FISCHER, Berichte, 1901, p. 2885; Ibid., 1902, p. 833, 3143, 3144.

Les prises sont faites directement à l'aide d'une pipette dans les flacons plongés dans le bain.

L'antiseptique employé est le fluorure de sodium en solution dans l'eau distillée à 5 p. 1000. Les expériences de Victor Henri ont montré qu'à cette concentration ce sel n'accélère ni ne retarde la réaction. Cet antiseptique s'est d'ailleurs montré bien supérieur au toluène qui n'empêche pas toujours les végétations microbiennes à la partie inférieure des solutions sucrées. Au contraire, avec le NaF, en prenant les précautions indiquées ci-après, nos solutions sont toujours restées stériles pendant toute la durée des expériences et même bien au-delà pour une série de flacons témoins conservés pendant quatre mois.

La maltase étudiée est celle qui se trouve dans la « diastase Taka » préparée chez Merck. Elle se présente sous forme d'une poudre jaune claire assez facilement soluble dans l'eau. Les solutions sont faites en broyant cette diastase par petites portions dans un mortier uniquement employé à cet usage, avec un peu d'eau fluorée. Chaque portion est jetée sur un papier filtre ordinaire mouillé qui est ensuite lavé à plusieurs reprises ; enfin, la solution totale est refiltrée cinq à six fois, jusqu'à ce qu'elle soit parfaitement claire ; on l'amène au volume désiré et on la porte au thermostat pendant 2^h au moins pour qu'elle en prenne bien la température ; nous avons obtenu de meilleurs résultats en prolongeant ce séjour pendant 12^h après lesquelles la solution est filtrée à nouveau, amenée au volume définitif dans un flacon jaugé et replacée dans le bain jusqu'à ce qu'elle en ait repris la température.

Les solutions de maltose pur, additionnées ou non de glucose pur suivant les cas, sont faites dans l'eau fluorée et toujours portées à l'ébullition pendant plusieurs minutes. Elles sont filtrées après refroidissement, la capsule et le filtre étant soigneusement lavés avec l'eau nécessaire pour amener la solution au volume désiré ; les volumes sont bien entendu toujours mesurés

dans des flacons jaugés-contrôlés. Ces solutions sont ensuite portées dans le thermostat et y sont laissées pendant 12^h pour qu'elles en prennent bien la température et pour éviter les erreurs causées par la birotation.

Enfin, on ajoute dans chaque ballon la quantité de solution de diastase nécessaire pour qu'elle agisse à la concentration désirée.

Dans chaque prise l'action du ferment est arrêtée en ajoutant une goutte de soude à 36° B. Il se produit un léger trouble, on filtre quand il s'est déposé, après une $\frac{1}{2}$ heure environ.

L'hydrolyse du maltose est suivie par des mesures à la liqueur de Fehling et au polarimètre ; toutefois des expériences de contrôle nous ont permis de voir que la seconde méthode est beaucoup plus sensible que la première, malgré tout le soin apporté dans les dosages, à cause de la dilution qu'on doit faire subir aux solutions. Les lectures au polarimètre sont faites une demi-heure au moins après les prises, mais comme ces intervalles n'étaient pas absolument égaux dans mes expériences, j'ai refait les lectures pour quelques séries 12^h après les premières. Les chiffres lus étaient les mêmes à 2' près, ce qui prouve en outre que la réaction était bien arrêtée.

Les valeurs représentant la transformation complète du maltose en glucose ont été obtenues en faisant l'hydrolyse par un acide. Des expériences spéciales nous ont montré : 1° que l'acide chlorhydrique est préférable à l'acide sulfurique qui attaque le glucose en solution concentré ; 2° que l'hydrolyse est complète au bout de 4^h avec l'HCl 0,18n pur à la température de 100°.

La fin de la réaction a toujours été contrôlée au moyen des ozazones.

Dans le but de voir si aucune action secondaire, par exemple le développement de microbes, ne venait s'ajouter à l'action de la diastase et troubler les résultats expérimentaux j'ai fait plusieurs séries d'expériences dans lesquelles j'introduisais des fla-

cons témoins contenant la diastase bouillie. Dans ces derniers, il ne se produisait aucune variation, et les chiffres des dosages sont toujours restés les mêmes aux erreurs de mesure près. Enfin les séries qui sont comparées entre elles sont toujours faites le même jour dans des conditions aussi identiques que possible.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.

§ 1. Constance du ferment.

Voulant faire une étude cinétique de la maltase contenue dans la Taka, le premier point à établir était de montrer que le ferment reste bien comparable à lui-même pendant toute la durée de la réaction et que, par conséquent, le ralentissement qui pourra être observé à la fin de l'hydrolyse n'est pas dû à un affaiblissement ou à une destruction de la diastase.

Nous avons démontré par deux méthodes que la maltase de la diastase Taka conserve la même activité pendant toute la durée de la réaction.

Première méthode.

Il est fait deux séries telles que :

I. Maltose 6 ‰ ;

II. Maltose 4 ‰ + Glucose 2 ‰ ;

et on y ajoute la même quantité de ferment agissant à la même température.

On voit aisément qu'après un certain temps la première série contiendra aussi Maltose 4 ‰ + Glucose 2 ‰, c'est-à-dire qu'à partir de ce moment si le ferment conserve la même activité, l'hydrolyse devra se continuer dans la série I avec la même vitesse que dans la série II au début. C'est ce qu'a complètement vérifié l'expérience comme le montrent les exemples suivants. Les nombres suivants indiquent les proportions de maltose hydrolysées à des temps déterminés d'après les mesures au polarimètre.

Nous désignons par a la quantité de maltose au début dans 100^{cc} de liqueur et par x la quantité hydrolysée au bout d'un certain temps : le rapport $\frac{x}{a}$ indique donc la proportion de maltose hydrolysée.

14 mars 1904.

Durées.	I Maltose 6 ^o / _o Taka 1 p. 500.	II Maltose 4 ^o / _o + Glucose 2 ^o / _o Taka 1 p. 500.
	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$
5 heures	0,054	0,039
7 —	0,081	0,077
12 —	0,141	0,19
24 —	0,375	0,42
31 —	0,446	0,51
48 —	0,684	0,80
74 —	0,862	0,89
99 —	0,912	0,89

Nous voyons qu'après 5^h dans la série II la proportion de maltose hydrolysée est 0,039 ; donc la quantité de maltose transformée en glucose dans 100^{cc} est $0,039 \times 4 = 0^{\text{gr}}186$. La quantité de glucose à ce moment dans 100^{cc} est de $2^{\text{gr}} + 0,186 = 2^{\text{gr}}186$.

Donc, relativement à la quantité totale de sucre $4^{\text{gr}} + 2^{\text{gr}} = 6^{\text{gr}}$, la proportion de glucose est $\frac{2^{\text{gr}}186}{6} 0^{\text{gr}}36$ après 5^h d'hydrolyse.

Nous voyons d'autre part qu'après 24^h dans la série I 0^{gr}37 de maltose sont hydrolysés, c'est-à-dire qu'après 24^h dans la série I et 5^h dans la série II le ferment agit sur des solutions ayant la même composition.

Si le ferment ne s'est pas affaibli à partir de ces moments les proportions hydrolysées doivent être les mêmes dans les mêmes temps. Voici les résultats. Les proportions hydrolysées sont rapportées dans les deux cas à 6^o/_o de sucre au début.

Durées.	Série I. Maltose 6 ‰. Proportions hydrolysées.	Durées.	Série II. Maltose 4 ‰ + Glucose 2 ‰. Proportions hydrolysées.
14 mars 1904.			
24 ^h + 7 ^h	0.44	7 ^h	0.384
24 ^h + 12 ^h	0.68	12 ^h	0.61
24 ^h + 50 ^h	0.86	48 ^h	0.87
24 ^h + 75 ^h	0.912	74 ^h	0.92
21 mars 1904.			
18 ^h + 6 ^h	0.41	6 ^h 1/2	0.42
18 ^h + 10 ^h	0.54	9 ^h	0.47
18 ^h + 24 ^h	0.76	28 ^h	0.71
28 juillet 1904.			
240 + 120 min.	0.54	120 min.	0.54
240 + 240 —	0.71	240 —	0.69
240 + 360 —	0.76	360 —	0.81

On voit par ces exemples que les proportions hydrolysées après des intervalles de temps égaux sont très voisines ce qui prouve que le ferment est resté bien constant.

2^e Méthode. — Je fais agir la maltase sur le maltose, lorsque l'hydrolyse paraît s'arrêter j'ajoute une nouvelle quantité de maltose. Si la maltase est intacte l'hydrolyse doit reprendre. Je suis donc à nouveau la marche de la réaction et je compare les chiffres obtenus à ceux de la première hydrolyse.

Pratiquement je fais les solutions suivantes :

I. Maltose 4 ‰	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Diastase Taka } 1^{\text{gr}} \text{ ‰} \\ \text{Diastase Taka } 1^{\text{gr}} \text{ ‰} \\ \text{Diastase Taka } 1^{\text{gr}} \text{ ‰} \\ \text{Diastase Taka } 1^{\text{gr}} \text{ ‰} \end{array} \right.$
II. Maltose 4 ‰ + Glucose 2 ‰	
III. Maltose 2 ‰ + Glucose 4 ‰	
IV. Maltose 2 ‰	

Je suis la vitesse d'hydrolyse pendant 15^h consécutives, je laisse les solutions pendant 23^h encore à l'étuve puis j'ajoute une certaine quantité de maltose aux séries II, III, IV de manière à avoir :

II bis	Maltose 4 ‰ + Glucose 2 ‰	Taka 1 ^{gr} p. 300.
III bis	Maltose 4 ‰ + Glucose 2 ‰	Taka 1 ^{gr} p. 300.
IV bis	Maltose 4 ‰ + Glucose 1 ‰	Taka 1 ^{gr} p. 200.

Si le ferment a conservé après 38^h son activité primitive la vitesse d'hydrolyse des séries II *bis* et III *bis* sera 3 fois plus faible que celle de la série II et la vitesse d'hydrolyse de IV *bis* environ 2 fois plus faible que celle de I, car nous montrerons ensuite que dans les limites de cette expérience la vitesse de la réaction est proportionnelle à la quantité de ferment.

Voici les résultats obtenus: Je donne ici les variations du pouvoir rotatoire, c'est-à-dire des nombres proportionnels à la quantité de maltose hydrolysée (une variation de 1° correspond environ à 0^{gr}.67 de maltose transformé en glucose).

	I Maltose 4 ‰. Taka 1 ‰.	II Maltose 4 ‰. Glucose 2 ‰. Taka 1 ‰.	III Maltose 2 ‰. Glucose 1 ‰. Taka 1 ‰.	IV Maltose 2 ‰. Taka 1 ‰.
1 ⁿ	0°,80	0°,63	0°,50	0°,67
2 ⁿ	1°,47	1°,40	1°,00	1°,23
2 ^b	1°,93	1°,80	1°,50	1°,73
4 ⁿ	2°,57	2°,50	2°,00	2°,23
6 ⁿ 1/4	3°,87	3°,83	2°,50	2°,73
8 ⁿ	4°,53	4°,47	2°,87	2°,76
10 ⁿ	—	4°,83	2°,87	2°,67
12 ⁿ 1/2	—	4°,93	2°,83	2°,67
15 ⁿ	5°,13	—	—	—

38^h. Addition d'une nouvelle quantité de maltose.

	II ^{bis} Maltose 4 ‰. Glucose 2 ‰. Taka 1 p. 300.	III ^{bis} Maltose 4 ‰. Glucose 2 ‰. Taka 1 p. 300.	IV ^{bis} Maltose 4 ‰. Glucose 1 ‰. Taka 1 p. 200.
12 ^h après l'addition	2°,63	2°,53	3°,37
18 ^h	—	4°,07	3°,97

On voit que les chiffres des séries II *bis* et III *bis* doivent être comparés à ceux de la série II obtenus au bout d'un temps 3 fois moins long puisque la concentration en diastase y est 3 fois plus forte et ceux de la série IV *bis* à ceux de la série I après un temps deux fois moins long.

La comparaison de ces chiffres donne :

Série II	Série II <i>bis</i>	Sér. III <i>bis</i>	Série I	Série IV <i>bis</i>
4 ^h 2°50	12 ^h 2°63	2°53	6 ^h 1/4 3°87	12 ^h 3°37
6 ^h 1/4 3°83	18 ^h 4°07	3°97	—	—

En tenant compte de toutes les causes d'erreur dans des expériences semblables on voit que la maltase de la diastase Taka ne s'est pas affaiblie même après 38^h de séjour en présence des produits de la réaction.

Expérience du 28 juillet 1904.

Je fais avec les précautions décrites plus haut les solutions suivantes :

I. Maltose 4 0/0	450 ^{cm3}	} Diastase Taka 1 ^{gr} 0/0
II. Maltose 6 0/0	450 ^{cm3}	
III. Maltose 4 0/0 + Glucose 2 0/0	300 ^{cm3}	
IV. Maltose 2 0/0 + Glucose 4 ^{gr} 0/0	300 ^{cm3}	

Je suis la marche de l'hydrolyse pendant 15^h 1/2 de suite. Il reste encore 150^{cm} de solutions I et II, je laisse l'hydrolyse s'y continuer pendant 25^h. A ce moment les dosages montrent que l'on a dans les séries :

I. Glucose 4 0/0.

II. Glucose 5,25 0/0 + Maltose 0,75 0/0.

J'ajoute dans la série I 150^{cm3} d'une solution de maltose à 8 0/0 ce qui donne :

I *bis* Maltose 4 0/0 + Glucose 2 0/0 + Taka 1/2^{gr} 0/0.

Dans la série II j'ajoute 75^{cm3} d'une solution à 6 0/0 ce qui donne :

II *bis* Maltose 2 1/2 0/0 + Glucose 3 1/2 0/0 + Taka 2/3^{gr} 0/0
et je suis encore la marche de la réaction pendant 20^h. On voit que les séries I *bis* et II *bis* seront comparables aux séries III et IV.

Les nombres suivants expriment les proportions de maltose hydrolysé après un certain temps $\left(\frac{x}{a}\right)$.

28 juillet 1904.

Diastase Taka 1 ‰

Durées.	I	II	III	IV
	Maltose 4 ‰.	Maltose 6 ‰.	Maltose 4 ‰. Glucose 2 ‰.	Maltose 2 ‰. Glucose 4 ‰.
	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$
62'	0,176	0,092	0,136	0,228
90'	—	—	—	308
120'	0,342	0,192	0,266	428
150'	—	—	—	572
182'	0,411	0,300	0,406	708
210'	—	—	—	800
240'	0,588	0,374	0,541	868
362'	0,753	0,548	0,718	922
480'	0,824	0,711	0,816	—
600'	0,859	0,766	0,846	—
750'	0,869	0,803	0,869	—
930'	0,900	0,822	0,885	—

Addition de maltose après 25 heures. Durée après l'addition de maltose.	I ^{bis}	II ^{bis}
	Taka 1/2 p. ‰ Maltose 4 ‰. Glucose 2 ‰.	Taka 2/3 ‰. Maltose 2 1/2 ‰. Glucose 3 1/2 ‰.
	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$
60'	0,05	0,131
120'	0,18	0,28
180'	0,24	0,38
310'	0,38	0,54
360'	0,44	0,63
420'	0,49	
490'	0,54	0,72
542'	0,57	
600'	0,63	

Dans les séries I^{bis} et III les concentrations du ferment étant dans le rapport de 1 à 2 les vitesses d'hydrolyse seront aussi dans ce même rapport. Pour les séries II^{bis} et IV elles seront sensiblement dans le rapport de 2 à 3. C'est ce que montre le tableau ci-dessus, examiné comme il a été dit précédemment.

L'ensemble de ces résultats obtenus par deux méthodes entièrement différentes montre donc que *la maltase de la diastase Taka agissant pendant 24^h et même 38^h à la température de 39° sur le maltose ne s'est aucunement affaiblie.*

On a donc le droit de considérer que dans une hydrolyse du maltose, pendant 24^h au moins la marche de la réaction exprime bien la loi d'action de la diastase, sans avoir à craindre les « transformations permanentes » du ferment.

Nous dirons tout de suite que Croft Hill et surtout E.-F. Armstrong, n'ont point donné cette preuve, dans leurs mémoires sur la maltase. On ne sait donc pas si le ferment employé par les auteurs restait comparable à lui-même.

§ 2. Influence de la concentration du ferment.

Je me suis bornée pour la maltase à l'étude de concentrations variant entre 1^g p. 1000, 1^g p. 500, 1^g p. 100. La comparaison de nombreuses séries m'a permis de voir que dans ces limites, *il y a proportionnalité entre la quantité de maltose et la vitesse de la réaction.*

Voici des chiffres.

Maltose 6 ^g 0/0.					
7 juin 1904. Taka 1 p. 1000.		21 mars 1904. Taka 1 p. 500.		28 juillet 1904. Taka 1 p. 100.	
Durée.	$\frac{x}{a}$	Durée.	$\frac{x}{a}$	Durée.	$\frac{x}{a}$
10 ^h	0,07	3 ^h 1/2	0,06	1 ^h	0,09
21 ^h	0,15	6 ^h 1/2	0,13	2 ^h	0,19
30 ^h	0,23	9 ^h	0,21	3 ^h	0,30
48 ^h	0,40	11 ^h	0,24	4 ^h	0,37
75 ^h	0,62	24 ^h	0,41	6 ^h	0,54
		28 ^h	0,54	8 ^h	0,71
		42 ^h	0,76	10 ^h	0,76

L'ensemble des résultats exprimés dans ce tableau confirme bien le fait que *la vitesse de la réaction est proportionnelle à la quantité de maltose.* Nous avons fait à propos de l'amylose une étude beaucoup détaillée sur ce point.

§ 3. Influence de la concentration en maltose.

Je me suis bornée à l'étude de concentrations moyennes variant entre 2 et 8^e p. 100, E. F. Terroine ayant fait des expériences sur l'influence de la concentration en maltose dans des limites plus étendues.

Comparons entre elles *quantités absolues* de maltose hydrolysées au bout d'un certain temps par une même quantité de diastase.

7 juin 1904.

Taka 1 p. 500.

Durées.	Maltose 2 %.	Maltose 4 %.	Maltose 6 %.	Maltose 8 %.
600'	1g,06	1g,12	0g,90	—
1260'	1,92	2,00	1,90	—

14 juin 1904.

Taka 1 p. 100.

60'	0,40	0,52	0,13 (?)	—
120'	0,76	1,00	0,60 (?)	—
180'	1,10	1,28	1,14	—
240'	1,40	1,60	1,80	—

30 juin.

50'	0,36	0,39	0,39	0,40
112'	0,85	0,80	0,89	0,96
175'	1,37	1,32	1,25	1,45

28 juillet 1904.

Taka 1 p. 100.

62'	0,74	0,70	0,55	0,66
120'	1,30	1,25	1,15	1,20
180'	1,66	1,76	1,80	—
240'	—	2,35	2,28	2,68
363'	—	3,01	3,24	3,76

On voit par tous ces exemples que *les quantités absolues de glucose formées après des temps donnés sont sensiblement les mêmes*. Dans ces limites elles sont donc indépendantes de la concentration. Pour des concentrations plus faibles, E.-F. Terroine a montré que les quantités de glucose formées croissent avec la concentration en maltose et on sait que le même fait s'est

retrouvé pour d'autres diastases comme l'invertine, l'émulsine, la trypsine.

Ce phénomène peut être exprimé mathématiquement par la loi suivante donnée par Victor Henri :

$$\text{Vitesse initiale} = \frac{K a}{1 + m a}$$

dans laquelle k et m sont deux constantes, a la concentration initiale en maltose. Si a est grand, la tenue $m.a$ devient considérable par rapport à 1, on peut le négliger dans le dénominateur et l'expression $k \frac{a}{ma}$ reste constante, c'est-à-dire que la vitesse initiale change très peu avec la concentration.

Si au contraire a est petit, $m.a$ sera petit par rapport à 1 et la vitesse initiale variera avec la concentration.

Donc, pour des solutions peu concentrées la vitesse initiale (absolue) croît avec la concentration, pour des solutions dont la concentration varie de 2 à 8 ‰ la vitesse initiale est indépendante de la concentration.

§ 4. Influence des produits de la réaction.

On sait quelle importance a prise en chimie physique l'étude des réactions dites « reversibles » dans lesquelles s'établit un « équilibre » entre les produits mis en présence et les produits de la réaction.

Lorsqu'il s'agit de diastases cette étude acquiert une importance théorique considérable comme nous l'avons montré plus haut.

Dans le cas de la maltase agissant sur le maltose, le seul produit de la réaction est le glucose; cette étude semble donc simplifiée.

Pour étudier l'influence du glucose sur la marche de l'hydrolyse nous faisons des séries comparables dans lesquelles nous ajoutons des quantités croissantes de glucose.

Voici des chiffres. Nous indiquons toujours les proportions de maltose hydrolysées à des intervalles de temps donnés.

7 juin 1904.

Diastase taka 1 p. 500.

Durées.	Maltose 2 0/0.	Maltose 2 0/0. Glucose 2 0/0.	Maltose 4 0/0.	Maltose 4 0/0. Glucose 2 0/0.
	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$
3 ^h	0,09	0,05	0,02	0,02
10 ^h	0,53	0,30	0,28	0,21
21 ^h	0,86	0,56	0,50	0,40
30 ^h	0,92	0,75	0,67	0,53
48 ^h	0,98	0,89	0,79	0,75
75 ^h	—	0,99	0,89	0,85

28 juillet.

Diastase Taka 1 p. 100.

Durées.	Maltose 2 0/0.	Maltose 2 0/0. Glucose 2 0/0.	Maltose 2 0/0. Glucose 4 0/0.	Maltose 4 0/0.	Maltose 4 0/0. Glucose 2 0/0.
	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$
63'	0,373	0,204	0,228	0,176	0,136
90'	0,515	0,378	0,308	—	—
121'	0,656	0,508	0,428	0,312	0,266
150'	0,772	0,652	0,572	—	—
180'	0,832	0,739	—	0,441	0,406
210'	0,860	0,817	0,708	—	—
240'	0,914	0,900	0,800	0,588	0,541
362'	0,965	0,970	0,868	0,753	0,718
480'	—	0,987	0,922	0,824	0,816
600'	—	—	—	0,859	0,846
750'	—	—	—	0,869	0,869
930'	—	—	—	0,900	0,885

2 mai 1904.

Diastase Taka 1 p. 500.

Durées.	Maltose 4 0/0.	Maltose 4 0/0. Glucose 10 0/0.	Maltose 4 0/0. Glucose 20 0/0.
	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$
6 ^h	0,15	0,07	0,05
30 ^h	0,68	0,50	0,46
48 ^h	0,83	0,83	0,77

L'examen du tableau précédent montre que :

1° L'hydrolyse d'une quantité donnée de maltose est d'autant moins rapide qu'elle se fait en présence d'une plus grande quantité de glucose.

2° La proportion de glucose a aussi une influence. Ainsi 2 0/0 de glucose retardent plus l'hydrolyse d'une solution à 2 0/0 de maltose que celle d'une solution à 4 0/0.

3° Le retard apporté par le glucose est faible, beaucoup plus faible que celui qui est apporté par le sucre interverti sur l'hydrolyse du saccharose par l'invertine, ainsi que le montrent les chiffres suivants empruntés aux travaux de Victor Henri.

	Saccharose 0,2 n	Saccharose 0,2 n + S. interverti 0,2 n	Saccharose 0,2 n + S. interverti 0,4 n
Durées	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$
44 min.	0.33	0.22	0.14
120 —	0.76	0.53	0.39

L'action ralentissante du sucre interverti sur l'invertine est donc bien plus forte que celle du glucose sur la maltase.

D'autre part, Victor Henri a montré que l'action ralentissante du sucre interverti était due surtout au lévulose. J'ai voulu voir si ce sucre exercerait aussi une action sur la maltase quoique ce ne soit point un produit naturel de l'hydrolyse.

Les expériences ont montré en effet, 1° *que le lévulose retarde l'action de la maltase sur le maltose*, et 2° *qu'il retarde plus que le glucose*.

Voici des chiffres.

	Diastase Taka 1 p. 100		
	I	II	III
30 juin 1905.	Maltose 4 0/0.	Maltose 4 0/0. Glucose 4 0/0.	Maltose 4 0/0. Lévulose 4 0/0.
Durées.	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$	$\frac{x}{a}$
62'	0,10	0,06	0,07
187'	0,33	0,23	0,17
362'	0,61	0,46	0,43
482'	0,77	0,56	0,52
790'	0,87	0,86	0,73

On voit que

1° l'hydrolyse de la série II est moins rapide que celle de la série I.

2° l'hydrolyse de la série III est encore moins rapide que celle de la série II et à *fortiori* que celle de la série I.

On voit donc que les produits de la réaction n'interviennent pas d'une façon particulière et exclusive mais que la réaction est modifiée par leur présence comme elle l'est par toute une série d'électrolytes qui influencent la formation des composés d'adsorption.

§ 5. Etude de la loi de vitesse de la réaction.

TECHNIQUE. Les recherches sur la loi d'action d'un ferment présentent des difficultés sérieuses parce que des influences en apparence petites et négligeables suffisent à fausser complètement les résultats. Telles sont

1° *L'influence de la température.* Une variation de 1° produit dans la valeur de K un écart de $\frac{1}{5}$ de sa valeur environ.

2° *L'influence de la variabilité du ferment.* On ne peut en aucune façon comparer directement les résultats obtenus au commencement et à la fin d'une réaction si le ferment s'affaiblit rapidement. Nous avons montré que la maltase de la diastase Taka était *très constante* pendant la durée de nos expériences.

3° *La manière dont est faite la solution de ferment* peut aussi avoir une influence sur son activité, et par suite de l'impossibilité de doser cette activité directement il ne faudra comparer entre elles que des séries faites le même jour, avec la même solution de ferment, bien homogène.

4° Le calcul prouve que dans les 2 ou 3 premières heures, la réaction se produisant très vite, il faut noter très exactement le *temps* des prises. Vers la fin de la réaction c'est surtout la *précision* des mesures qui importe. Prenons un exemple: nous trouvons dans la série du 28 juillet contenant 2 % de maltose que le pouvoir rotatoire au début est de 5°,32 ; après 6^h il est égal à 3°,17. Au moment de l'hydrolyse complète il est 3°,12.

La variation du pouvoir rotatoire en 6^h est

$$5^{\circ},32 - 3^{\circ},17 = 2^{\circ},25.$$

La variation correspondant à l'hydrolyse complète est

$$5^{\circ},32 - 3^{\circ},12 = 2^{\circ},33.$$

D'où la proportion de maltose hydrolysée après 6^h est

$$\frac{2^{\circ},25}{2^{\circ},33} = 0,965.$$

Supposons que nous ayons fait une erreur de 2' *seulement* dans la lecture et que nous ayons trouvé 3°,19 comme pouvoir rotatoire après 6^h. La proportion hydrolysée eût été alors de

$$\frac{2^{\circ},21}{2^{\circ},33} = 0,948.$$

Si on calcule l'expression $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ on trouve dans le 1^{er} cas $K = 0,00402$, dans le 2^{me} cas $K = 0,00357$.

Comme la méthode polarimétrique nous donne guère une approximation supérieure à 2' on voit qu'au delà d'une hydrolyse de 90 % elle n'est pas suffisamment précise. Il en est de même de la méthode par le réactif cupro-potassique. Mais vers le milieu de la réaction une erreur de 2' ne fait pas beaucoup varier la valeur de K et par conséquent cette méthode polarimétrique peut être employée si l'on a soin de s'exercer suffisamment. C'est pourquoi avant d'entreprendre aucune recherche j'ai fait toute une série d'expériences de contrôle me permettant de me rendre compte de la précision de mes dosages.

Je faisais par exemple des séries telles que :

1°	maltose	4 ‰			
2°	—	38,6 ‰	+	glucose	08,4 ‰
3°	—	38 ‰	+	—	18 ‰
4°	—	28 ‰	+	—	28 ‰
5°	—	18 ‰	+	—	38 ‰
6°	—	0,4 ‰	+	—	38,6 ‰
7°				—	48 ‰

et je me proposais de retrouver par les dosages à la liqueur de Fehling et au polarimètre les quantités de deux sucres mises dans les solutions.

Voici les résultats obtenus.

27 mai 1904.

Mesures au polarimètre.							Dosages à la liqueur de Fehling.						
Quantités de maltose ‰			Quantités de glucose ‰		Proportions de glucose ‰		Quantités de maltose ‰		Quantités de glucose ‰		Proportions de glucose ‰		
mises		calculées	mises	calculées	mises	calculées	mises		calculées		mises	calculées	
1°	4 g.	4 g.	—	—	—	—	4,0	4 g.	—	—	—		
2°	3,6	3,604	0,4	0,396	0,1	0,099	3,6	3,608	0,4	0,392	0,1	0,098	
3°	3,0	3,004	1,0	0,996	0,25	0,249	3,0	3,08	1,0	0,92	0,25	0,23	
4°	2,0	2,032	2,0	1,968	0,50	0,492	2,0	1,92	2,0	2,08	0,50	0,52	
5°	1,0	1.	3,0	3.	0,75	0,75	1,0	0,72	3,0	3,28	0,75	0,82	
6°	0,4	0,4	3,6	3,6	0,90	0,90	0,4	0,36	3,6	3,64	0,90	0,91	
7°	—	—	4,0	—	—	—	—	—	4,0	—	—		

On voit que les quantités de glucose et de maltose calculées d'après les mesures au polarimètre sont extrêmement voisines des quantités *mises* dans les solutions. La méthode par la liqueur de Fehling donne, pour ces concentrations, des résultats un peu moins bons à cause des dilutions qu'on doit faire subir aux solutions.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX. La première question qui se posait à moi pour l'étude de la loi d'action de la maltase contenue dans la Taka était de savoir si elle suivait la loi logarithmique trouvée pour les acides. Je fis donc l'hydrolyse du maltose par un acide et par la maltase pour les comparer et je cherchai la valeur de l'expression

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$$

Voici les résultats d'une hydrolyse suivie pendant 4^h à 99°.

Maltose 4 ‰ + HCl 0,18 n.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
30'	0,53	0,0109
45'	0,68	0,0109
60'	0,79	0,0111
90'	0,88	0,0102
120'	0,975	0,0118
180'	0,988	0,0107
240'	1,00	—

On voit que conformément aux résultats d'un grand nombre d'auteurs la valeur de k reste bien constante pendant toute la durée de l'hydrolyse par l'acide.

Si nous examinons maintenant l'hydrolyse de solutions variant de 2 à 8 % de maltose par la diastase Taka nous trouvons que sa vitesse est plus rapide que ne l'indique la loi logarithmique.

La valeur de $k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ croît régulièrement depuis le début jusqu'à l'hydrolyse de 80 à 90 % du maltose.

Vers la fin se produit un ralentissement dont les causes sont difficiles à élucider mais qui semble d'ordre général dans toutes les réactions qui se produisent avec une certaine vitesse.

Voici les valeurs du rapport $\frac{x}{a}$ et les valeurs correspondantes de $k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ pour quelques séries du 28 juillet 1904.

Durées.	Diastase Taka 1 %.							
	Maltose 2 %.		Maltose 4 %.		Maltose 6 %.		Maltose 8 %.	
	$\frac{x}{a}$	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$	$\frac{x}{a}$	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$	$\frac{x}{a}$	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$	$\frac{x}{a}$	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
62'	0,373	0,00327	0,176	0,00133	0,098	0,000700	0,083	0,000600
90'	0,515	0,00349	—	—	—	—	—	—
120'	0,656	0,00386	0,312	0,00135	0,192	0,000771	0,155	0,000610
150'	0,772	0,00428	—	—	—	—	—	—
180'	0,832	0,00452	0,441	0,00140	0,300	0,000864	—	—
210'	0,860	0,00406	—	—	—	—	—	—
240'	0,914	0,00410	0,588	0,00160	0,374	0,000847	0,33	0,000725
362'	0,965	0,00402	0,753	0,00167	0,548	0,000930	0,47	0,000766
480'	1,000	—	0,824	0,00157	0,711	0,001123	0,58	0,000785
600'	—	—	0,859	0,00141	0,766	0,001051	0,725	0,000934
750'	—	—	0,869	0,00118	0,803	0,000941	0,80	0,000933
930'	—	—	0,900	0,00107	0,822	0,000806	0,86	0,000937

On voit par l'examen de ces séries que l'expression

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$$

ne représente pas l'action de la diastase Taka sur le maltose. La variation dans la valeur de k est d'ailleurs du même sens que pour l'action de l'invertine sur la saccharose.

De nombreuses séries données ci-après confirment ce résultat.

§ 1. Etude empirique de la loi d'action de la maltase.

La loi logarithmique ne s'appliquant pas il s'agit de chercher une expression qui représente la vitesse d'hydrolyse du maltose par la maltase.

Cette expression doit remplir deux conditions :

1^o Elle doit représenter la vitesse d'hydrolyse d'une série jusqu'à ce que 90 % du maltose soient transformés. La valeur de la constante doit rester la même aux erreurs d'expérience près, bien entendu.

On sait que Victor Henri a trouvé pour l'invertine une formule qui remplit cette condition. Elle a pour expression

$$2 K_1 = \frac{1}{t} \log \frac{a+x}{a-x} \text{ (II).}$$

Essayons de l'appliquer à l'étude de l'action de la diastase Taka sur la maltase.

Nous donnons ici les valeurs de $\frac{x}{a}$ et de .

$$2 K_1 = \frac{1}{t} \log \frac{a+x}{a-x}.$$

28 juillet 1904.

Durée.	Diaslase Taka 1 p. 100.							
	Maltose 2 ‰.		Maltose 4 ‰.		Maltose 6 ‰.		Maltose 8 ‰.	
	$\frac{x}{a}$	2K ₁	$\frac{x}{a}$	2K ₁	$\frac{x}{a}$	2K ₁	$\frac{x}{a}$	2K ₁
62'	0,373	0,00544	0,176	0,00244	0,092	0,00133	0,083	0,00120
90'	0,515	0,00549	—	—	—	—	—	—
120'	0,656	0,00552	0,312	0,00233	0,192	0,00140	0,155	0,00113
150'	0,772	0,00594	—	—	—	—	—	—
180'	0,832	0,00589	0,441	0,00228	0,300	0,00149	—	—
210'	0,860	0,00535	—	—	—	—	—	—
240'	0,914	0,00561	0,588	0,00244	0,374	0,00141	0,330	0,00120
362'	0,965	0,00583	0,753	0,00235	0,548	0,00148	0,470	0,00123
480'	1,000	—	0,824	0,00232	0,711	0,00160	0,580	0,00120
600'	—	—	0,859	0,00200	0,766	0,00146	0,725	0,00133
750'	—	—	0,869	0,00154	0,803	0,00130	0,800	0,00127
930'	—	—	0,900	0,00137	0,822	0,00108	0,860	0,00120

L'examen de ces séries montre que les valeurs de 2 k₁ dans chaque série restent bien constantes jusqu'à l'hydrolyse de 80 à 90 ‰, puis diminuent dans toutes vers la fin de la réaction.

2° La valeur de 2 k₁ doit encore rester constante quand on compare des séries de même concentration totale en glucose et maltose, comme les séries suivantes :

Maltose 6 ‰

Maltose 4 ‰ + Glucose 2 ‰

Maltose 2 ‰ + Glucose 4 ‰

Maltose 4 ‰

Maltose 2 ‰ + Glucose 2 ‰

Nous avons dit en effet précédemment qu'une solution contenant Maltose 4 ‰ + Glucose 2 ‰ pouvait être considérée comme une solution à 6 ‰ de maltose dont l'hydrolyse est déjà commencée depuis un certain temps. Le ferment n'ayant en rien perdu de son activité l'hydrolyse doit se poursuivre avec la même vitesse dans les deux cas et les valeurs de 2 k₁ doivent

être identiques. Quand on ajoute du glucose au début de la réaction le calcul de $2k_1$ devient un peu plus compliqué. Victor Henri a montré que l'expression devient

$$(III). \quad 2K'_1 = \frac{1}{t} \left(\log \frac{a + 2g + x}{a - x} - \log \frac{a + 2g}{a} \right)$$

dans laquelle a est toujours la quantité de maltose au début, g la quantité de glucose au début. Voici les valeurs de $2k_1$ calculées d'après la formule II pour les séries maltose 6 0/0, maltose 4 0/0 et d'après la formule III pour les séries maltose 4 0/0 + glucose 2 0/0; maltose 2 0/0 + glucose 4 0/0; maltose 2 0/0 + glucose 2 0/0.

28 juillet 1904.

Diastase Taka 1 0/0.

Durées.	Maltose 6 0/0.		Maltose 4 0/0 + Glucose 2 0/0.		Maltose 2 0/0 + Glucose 4 0/0.		Maltose 4 0/0.		Maltose 2 0/0 + Glucose 2 0/0.	
	$\frac{x}{a}$	$2K_1$	$\frac{x}{a}$	$2K'_1$	$\frac{x}{a}$	$2K'_1$	$\frac{x}{a}$	$2K_1$	$\frac{x}{a}$	$2K'_1$
62'	0,092	0,00133	0,136	0,00150	0,228	0,00214	0,176	0,00244	0,204	0,00203
90'	—	—	—	—	0,308	0,00206	—	—	—	0,00286
120'	0,192	0,00140	0,266	0,00157	0,428	0,00232	0,312	0,00233	0,378	0,00293
150'	—	—	—	—	0,572	0,00270	—	—	0,508	0,00296
180'	0,300	0,00149	0,406	0,00170	—	—	0,441	0,00228	0,652	0,00378
210'	—	—	—	—	0,708	0,00282	—	—	0,739	0,00400
240'	0,374	0,00141	0,541	0,00184	0,800	0,00318	0,588	0,00244	0,817	0,00464
362'	0,548	0,00148	0,718	0,00191	0,868	0,00290	0,753	0,00235	0,97	0,00426
480'	0,711	0,00160	0,816	0,00191	0,922	0,00245	0,824	0,00232	0,987	0,00418
600'	0,766	0,00146	0,846	0,00157	—	—	0,859	0,00200	—	—
750'	0,803	0,00130	0,869	0,00136	—	—	0,869	0,00154	—	—
930'	0,822	0,00108	0,885	0,00116	—	—	0,900	0,00137	—	—

On voit :

1° Que les valeurs de $2K_1$ augmentent dans les séries 2 et 3 jusqu'à ce que 80 0/0 environ du maltose soient hydrolysés.

2° En comparant les cinq séries on voit que les valeurs des constantes ne sont pas les mêmes. On trouve en moyenne :

1 ^{re} série	$2K_1 = 139$
2 ^{me} série	$2K_1 = 169$
3 ^{me} série	$2K_1 = 257$
4 ^{me} série	$2K_1 = 212$
5 ^{me} série	$2K_1 = 352$

La valeur de la constante augmente donc avec la quantité de glucose ajoutée au début.

D'autre part deux séries ont été faites en ajoutant dans une réaction commencée depuis 25^h une nouvelle quantité de maltose.

Nous avons vu précédemment que la diastase n'avait en rien perdu de son activité; on peut donc continuer à suivre cette hydrolyse et voir si le sucre provenant immédiatement de l'hydrolyse du maltose agit de la même façon que le glucose pur ajouté au début de la réaction dans d'autres séries. Nous avons trouvé de même que *la valeur de $2K_1$ croît* avec la quantité de maltose hydrolysé qui se trouvait dans la solution.

Ce résultat est constant ainsi que le montrent les séries suivantes où nous donnons les valeurs moyennes de $2K_1$.

Titre des solutions.	14 mars.	21 mars.	7 juin.	15 juin.	30 juin.	28 juillet.
Maltose 8 ‰	—	—	—	—	0,000927	—
— 4 ‰ + glucose 4 ‰	—	—	—	—	0,000968	—
— 6 ‰	0,000210	0,00030?	0,000240	0,00103	0,001190	0,00139
— 4 ‰ + — 2 ‰	0,000227	0,000260	0,000260	0,00153	—	0,00169
— 2 ‰ + — 4 ‰	0,000283	0,000343	0,000306	0,00190	—	0,00257
— 2 ‰ + — 2 ‰	—	—	—	—	—	0,00351
4 ‰ + Malt. hyd. 2 ‰	—	—	—	—	—	0,00180
2,5 ‰ + — 3,5 ‰	—	—	—	—	—	0,00216

Au contraire pour l'invertine V. Henri avait trouvé une concordance complète entre les valeurs de $2k_1$, qu'il fasse agir l'invertine sur du saccharose ou sur du saccharose additionné de quantités plus ou moins grandes de sucre interverti.

3° Enfin, la valeur de $2k_1$ varie aussi avec la concentration en maltose, au début de la réaction. Ainsi par exemple nous

trouvons comme valeur moyenne de $2 k_1$ pour les séries suivantes du 28 juillet :

Maltose 8 ‰	Maltose 6 ‰	Maltose 4 ‰	Maltose 2 ‰
0,00108	0,00139	0,00212	0,00551

Donc à ce point de vue la formule $2 k_1 = \frac{1}{t} \log \frac{a+x}{a-x}$ ne représente pas bien la loi d'action de la maltase.

On doit chercher une formule qui exprime simultanément la marche de la réaction pour une série donnée et l'influence de la concentration.

§ 2. Application de la formule de Bodenstein à l'étude de la maltase.

Bodenstein¹ a proposé pour l'étude des réactions diastasiques une formule qui s'applique bien pour les *concentrations moyennes* à l'hydrolyse du saccharose par l'invertine; cherchons s'il en sera de même pour l'étude de la maltase.

On doit supposer d'après cet auteur que si l'on met une certaine quantité F de ferment en présence d'une quantité a de maltose et g de glucose l'activité est diminuée par chacun de ces deux sucres, de sorte que l'activité du ferment peut être représentée par

$$\frac{F}{m \cdot a + n \cdot g}$$

m et n étant deux constantes qui caractérisent l'action du maltose et du glucose (ces valeurs varient suivant la nature, l'origine et la préparation de la diastase).

La vitesse d'hydrolyse étant plus rapide que ne l'indique la loi logarithmique on doit supposer que $m > n$.

Dans le cas de l'invertine agissant sur le saccharose Bodenstein prend $m = 2$, $n = 1$.

¹ Voir Victor Henri. Lois gen. action des diastases, Paris 1903.

Nous avons vu précédemment que l'action du glucose sur la maltase est plus faible que l'action du sucre interverti sur l'invertine, on peut donc supposer que la différence entre m et n est plus grande que dans ce dernier cas.

Posons par exemple $m = 3'$, $n = 1$. Il est probable d'ailleurs que d'autres valeurs comme $m = 2,8$ et $n = 1$ ou $m = 3,2$ et $n = 1$ s'appliqueraient mieux mais nous prenons $m = 3$ pour simplifier les calculs.

La formule de Bodenstein conduit dans ce cas à l'expression

$$K_2 = \frac{a}{t} \left(\frac{2x}{a} + \ln \frac{a}{a-x} \right)$$

et dans le cas où l'on a, au début, une quantité a de maltose et g de glucose elle devient

$$K_2 = \frac{a+g}{t} \left(\frac{2x}{a+g} + \ln \frac{a}{a-x} \right)$$

On verra dans les tables qui suivent :

1° que les valeurs de K_2 pour des concentrations en maltose variant de 2 à 8 0/0 sont très voisines.

2° que dans chaque série les valeurs de K_2 restent bien constantes depuis le début de l'hydrolyse jusqu'à ce que environ 80 0/0 du maltose soient transformés.

En première approximation la formule de Bodenstein représente donc assez bien l'action de la maltase sur le maltose pour des *solutions de concentrations moyennes*.

RÉSULTATS NUMÉRIQUES.

Les tables suivantes contiennent les résultats numériques d'un certain nombre d'expériences et pourront je pense servir de bases à des recherches théoriques.

Ces tables contiennent :

1° les durées

2° les proportions hydrolysées

3° les valeurs de $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$

$$2 K_1 = \frac{1}{t} \log \frac{a+x}{a-x}$$

$$2 K'_1 = \frac{1}{t} \left(\log \frac{a+2g+x}{a-x} + \log \frac{a+2g}{a} \right)$$

$$K_2 = \frac{a}{t} \left(\frac{2x}{a} + \ln \frac{a}{a-x} \right)$$

7 juin.

I. Maltose 2 % + Diastase Taka 1 g. p. 500.

Durées.	$\frac{a}{x}$	K	K ₁	K ₂
180'	0,092	0,000233	0,000445	0,0030
600'	0,53	0,000564	0,000887	0,0059
1260'	0,86	0,000677	0,000891	0,0058
1800'	0,92	0,000664	0,000822	0,0051
2880'	0,98	0,000590	0,000693	0,0041

II. Maltose 4 % + Diastase Taka 1 g. p. 500.

180'	0,019	0,0000474	0,0000917	0,0012
600'	0,28	0,000235	0,000433	0,0059
1260'	0,50	0,000239	0,000378	0,0054
1800'	0,67	0,000266	0,000391	0,0054
2880'	0,79	0,000235	0,000323	0,0043
4500'	0,89	0,000222	0,000274	0,0036

III. Maltose 6 % + Diastase Taka 1 p. 1000.

600'	0,076	0,0000572	0,0000929	0,0023
1260'	0,15	0,0000560	0,0001121	0,0022
1800'	0,24	0,0000571	0,0001124	0,0025
2280'	0,40	0,0000770	0,0001277	0,0026
1600'	0,625	0,0000946	0,0001614	0,0029
5940'	0,64	0,0000747	0,0001110	0,0023

IV. Maltose 4 % + Glucose 2 % + Diastase Taka 1 p. 500.

Durées	$\frac{\alpha}{\beta}$	K	2 K ₁	2 K' ₁	K ₂
180'	0,019	0,000047	0,000091	0,000065	0,0014
600'	0,21	0,000170	0,000308	0,000243	0,0051
1260'	0,40	0,000176	0,000292	0,000239	0,0050
1800'	0,53	0,000182	0,000283	0,000227	0,0060
2880'	0,75	0,000209	0,000293	0,000262	0,0060
4500'	0,85	0,000182	0,000242	0,000217	0,0048

V. Maltose 2 % + Glucose 4 % Diastase Taka 1 p. 500.

180'	0,05	0,000122	0,000291	0,000147	0,0025
600'	0,30	0,000258	0,000448	0,000300	0,0054
1260'	0,56	0,000283	0,000452	0,000319	0,0057
1800'	0,75	0,000334	0,000470	0,000368	0,0062
2880'	0,89	0,000333	0,000429	0,000339	0,0058
4500'	0,98	0,000377	0,000443	0,000394	0,0040

14 juin 1904.

I. Maltose 2 % Diastase Taka 1 g p. 100.

Durées	$\frac{\alpha}{a}$	K	2K ₁	K ₂
60'	0,21	0,00170	0,00308	0,022
120'	0,38	0,00173	0,00290	0,021
180'	0,55	0,00193	0,00315	0,021
240'	0,70	0,00218	0,00352	0,020
375'	0,86	0,00228	0,00300	0,020

II. Maltose 4 % Diastase Taka 1 g p. 100.

60'	0,13	0,00101	0,00189	0,026
120'	0,25	0,00104	0,00185	0,026
180'	0,32	0,00091	0,00160	0,023
240'	0,43	0,00102	0,00166	0,023
375'	0,65	0,00121	0,00180	0,025
480'	0,75	0,00125	0,00176	0,024
600'	0,83	0,00128	0,00172	0,023

III. Maltose 6 % . Diastase Taka 1 g p. 100.

Durée	$\frac{x}{a}$	K	2K ₁	K ₂
60'	0,025	0,000163	0,000327	0,0075
120'	0,097	0,000262	0,000704	0,0097
180'	0,19	0,000519	0,000873	0,0197
240'	0,30	0,000645	0,001120	0,024
375'	0,44	0,000671	0,001090	0,023
480'	0,60	0,000808	0,001254	0,026
600'	0,73	0,000947	0,001344	0,027
750'	0,86	0,001152	0,001495	0,039
1680'	0,96	0,000891	0,001076	0,021

IV. Maltose 4 % + Glucose 2 % Diastase Taka 1 g p. 100.

Durées	$\frac{x}{a}$	K	2K ₁	2K' ₁	K ₂
60'	0,10	0,000763	0,00145	0,00111	0,023
120'	0,23	0,000946	0,00169	0,00134	0,027
180'	0,30	0,000860	0,00149	0,00119	0,025
240'	0,42	0,000986	0,00162	0,00133	0,027
375'	0,64	0,001190	0,00175	0,00150	0,030
480'	0,75	0,001245	0,00176	0,00154	0,030
600'	0,83	0,001282	0,00172	0,00153	0,028
750'	0,85	0,001100	0,00145	0,00130	0,024

V. Maltose 2 % + Glucose 4 % . Diastase Taka 1 g p. 100.

60'	0,16	0,00126	0,00233	0,00148	0,028
120'	0,32	0,00140	0,00240	0,00162	0,030
180'	0,48	0,00158	0,00252	0,00181	0,033
240'	0,64	0,00185	0,00274	0,00211	0,036
375'	0,80	0,00187	0,00255	0,00204	0,033
480'	0,91	0,00218	0,00276	0,00235	0,036

30 juin 1904.

I. Maltose 2 % + Diastase Taka 1 g. p. 100.

Durées.	$\frac{x}{a}$	K	2K ₁	K ₁
50'	0,182	0,001745	0,00319	0,020
111'	0,423	0,002151	0,00412	0,025
175'	0,636	0,002508	0,00373	0,026
228'	0,850	0,003600	0,00489	0,031
351'	0,950	0,003740	0,90465	0,027
470'	0,980	0,00366	0,00424	0,025

II. Maltose 4 % + Diastase Taka 1 g. p. 100

51'	0,098	0,000880	0,00167	0,023
112'	0,198	0,000864	0,08156	0,022
175'	0,33	0,001030	0,00170	0,022
230'	0,49	0,001270	0,00202	0,026
349'	0,61	0,001196	0,00176	0,025
469'	0,76	0,001340	0,00184	0,024
588'	0,81	0,001223	0,00166	0,022
778'	0,87	0,001134	0,00148	0,021
903'	0,90	0,001065	0,00148	0,022

III. Maltose 6 % Diastase Taka 1 g. p. 100.

51'	0,065	0,000484	0,00111	0,021
112'	0,149	0,000625	0,00107	0,024
175'	0,209	0,000583	0,00100	0,023
229'	0,305	0,000687	0,00118	0,027
350'	0,420	0,000676	0,00111	0,024
470'	0,528	0,000694	0,00108	0,023
588'	0,649	0,000773	0,00114	0,023
903'	0,781	0,000723	0,00101	0,021

30 juin 1904.

IV. Maltose 8 %₀. Diastase Tako 1 g. p. 100.

Durées	$\frac{x}{a}$	K	2K ₁	K ₂
50'	0,055	0,000491	0,000974	0,025
111'	0,124	0,000518	0,000975	0,027
174'	0,182	0,000501	0,000919	0,021
228'	0,254	0,000559	0,000990	0,027
358'	0,342	0,000535	0,000889	0,025
468'	0,456	0,000565	0,000913	0,025
778'	0,632	0,000558	0,000831	0,023

V. Maltose 4 %₀ + Glucose 4 %₀. Diastase Taka 1. p. 100.

	$\frac{x}{a}$	K	2K ₁	2K' ₁	K ₂
51'	0,061	0,000536	0,00106	0,000704	0,019
113'	0,152	0,000633	0,00117	0,000821	0,022
175'	0,227	0,000688	0,00114	0,000821	0,022
229'	0,350	0,000813	0,00139	0,001017	0,027
349'	0,456	0,000754	0,00122	0,000931	0,032
469'	0,556	0,000750	0,00116	0,000926	0,032
589'	0,766	0,001052	0,00149	0,001239	0,040
779'	0,863	0,001104	0,00132	0,001286	0,038

VI. Maltose 4 %₀ + Lévéulose 4 %₀. Diastase Taka 1 p. 100.

51'	0,077	0,000561		0,024
176'	0,172	0,000443		0,016
351'	0,437	0,000667		0,023
471'	0,520	0,000661		0,021
779'	0,730	0,000720		0,021

28 juillet 1904.

I. Maltose 2 % + Taka 1 p. 100.

Durées	$\frac{x}{a}$	K	2 K ₁	K ₂
62'	0,373	0,00327	0,00544	0,039
90'	0,515	0,00349	0,00549	0,039
120'	0,656	0,00386	0,00552	0,039
150'	0,772	0,00428	0,00594	0,040
176'	0,832	0,00452	0,00589	0,039
210'	0,860	0,00406	0,00535	0,035
240'	0,914	0,00410	0,00561	0,036
362'	0,965	0,00402	0,00483	0,029
480'	1,000			

II. Maltose 4 % Taka 1 p. 100.

63'	0,176	0,00133	0,00244	0,034
120'	0,312	0,00135	0,00233	0,033
181'	0,441	0,00140	0,00228	0,030
241'	0,588	0,00160	0,00244	0,034
363'	0,753	0,00167	0,00235	0,032
480'	0,824	0,00157	0,00232	0,030
600'	0,859	0,00141	0,00200	0,025
750'	0,869	0,00118	0,00154	0,0202
930'	0,900	0,00107	0,00137	0,018

III. Maltose 6 % + Diastase Taka 1 p. 100.

63'	0,092	0,000700	0,00133	0,028
120'	0,192	0,000771	0,00140	0,028
182'	0,300	0,000864	0,00149	0,032
240'	0,374	0,000847	0,00141	0,030
363'	0,548	0,000930	0,00148	0,031
480'	0,711	0,001123	0,00160	0,033
600'	0,766	0,001051	0,00146	0,030
750'	0,803	0,000941	0,00130	0,026
930'	0,822	0,000806	0,00100	0,022

IV. Maltose 8 % + Diastase Taka 1 p. 100.

Durées	$\frac{x}{a}$	K	2K ₁	K ₂
63'	0,083	0,000600	0,00120	0,031
120'	0,155	0,000610	0,00113	0,032
181'	—	—	—	—
241'	0,33	0,000725	0,00120	0,035
363'	0,47	0,000766	0,00123	0,035
480'	0,58	0,000785	0,00120	0,034
600'	0,725	0,000934	0,00133	0,036
750'	0,80	0,000932	0,00127	0,034
900'	0,86	0,000937	0,00120	0,033

V. Maltose 2 % + Glucose 2 % + Taka 1 p. 100.

Durées.	$\frac{x}{a}$	K	2K ₁	2K' ₁	K ₂
63'	0,204	0,0159	0,00285	0,00203	0,027
90'	0,378	0,0229	0,00385	0,00286	0,038
121'	0,508	0,0254	0,00402	0,00293	0,0405
150'	0,652	0,0305	0,00450	0,00296	0,045
180'	0,739	0,0224	0,00457	0,00378	0,046
210'	0,817	0,0351	0,00474	0,00400	0,048
240'	0,900	0,0416	0,00532	0,00464	0,053
362'	0,970	0,0402	0,00502	0,00426	0,049
480'	0,987	0,0393	0,00455	0,00418	0,044

VI. Maltose 2 % + Glucose 4 % Diastase Taka 1 p. 100.

62'	0,228	0,00181	0,00235	0,00214	0,041
90'	0,308	0,00178	0,00397	0,00206	0,038
120'	0,428	0,00202	0,00331	0,00232	0,042
150'	0,572	0,00245	0,00376	0,00270	0,049
180'	—	—	—	—	—
210'	0,708	0,00254	0,00365	0,00282	0,049
240'	0,800	0,00291	0,00397	0,00318	0,053
362'	0,868	0,00240	0,00320	0,00290	0,043
480'	0,922	0,00230	0,00300	0,00245	0,039

VII. Maltose 4 % + Glucose 2 % Diastase Taka 1 p. 100.

Durée	$\frac{x}{a}$	K	2K ₁	2K ₁ '	K ₂
62'	0,136	0,00102	0,00191	0,00150	0,028
120'	0,266	0,00112	0,00200	0,00157	0,033
182'	0,406	0,00124	0,00205	0,00170	0,035
240'	0,541	0,00149	0,00219	0,00184	0,038
362'	0,718	0,00152	0,00230	0,00191	0,037
480'	0,816	0,00175	0,00207	0,00191	0,035
600'	0,846	0,00135	0,00180	0,00157	0,029
750'	0,869	0,00117	0,00154	0,00135	0,025
930'	0,885	0,00101	0,00130	0,00116	0,022

VIII. Maltose 4 % + Maltose hydrolysé 2 % Dias. Taka 1 gr. 200.

60'	0,05	0,000371	0,000724	0,000550	0,012
120'	0,18	0,000718	0,001320	0,01130	0,022
180'	0,24	0,000662	0,001181	0,00998	0,019
310'	0,38	0,000662	0,001105	0,00913	0,019
360'	0,44	0,000700	0,001137	0,00939	0,019
420'	0,49	0,000700	0,001107	0,00923	0,019
490'	0,54	0,000688	0,001136	0,00900	0,019
542'	0,57	0,000674	0,001040	0,00845	0,018
600'	0,637	0,000719	0,001076	0,00918	0,018

IX. Maltose 2 gr. 5 % + Maltose hydrolysé 3,5 % Taka 1 p. 150.

60'	0,131	0,00101	0,00191	0,00131	0,024
120'	0,28	0,00127	0,00216	0,00162	0,029
180'	0,38	0,00115	0,00193	0,00139	0,026
310'	0,54	0,00109	0,00170	0,00133	0,022
360'	0,63	0,00120	0,00179	0,00143	0,025
480'	0,72	0,00131	0,00191	0,00158	0,023

CONCLUSIONS DES RECHERCHES SUR LA MALTASE.

1° La maltase (Diastase Taka) agissant pendant 24 et 38 heures à 39° sur le maltose conserve complètement son activité primitive.

2° La vitesse d'action de la maltase est proportionnelle à la concentration de ce ferment.

3° La vitesse absolue de l'hydrolyse du maltose ne varie pas quand on prend des solutions à 2, 4, 6, 8 % de maltose. Pour des solutions moins concentrées elle varie avec la concentration. Ce dernier point a été obtenu par Terroine.

La vitesse initiale de l'action de la maltase sur une quantité a de maltose peut être représentée par la formule

$$\text{Vitesse initiale} = K \frac{a}{1 + ma}.$$

Elle obéit donc à la loi indiquée par Victor Henri pour l'invertine, l'émulsine et la trypsine.

4° Le glucose ralentit l'action de la maltase sur le maltose. Ce retard est plus faible que celui qui est exercé sur l'invertine par le sucre interverti.

5° Le lévulose retarde l'action de la maltase de même qu'il retarde l'action de l'invertine plus que ne le fait le glucose.

6° Les valeurs de K augmentent, c'est-à-dire que la réaction est plus rapide que ne l'indique la loi logarithmique.

7° Les valeurs de $2K_1$ restent à peu près constantes, par conséquent la vitesse d'hydrolyse du maltose par la maltase suit à peu près la même loi empirique que l'hydrolyse du saccharose par l'invertine.

8° Dans le cas d'addition du glucose au début de la réaction les valeurs de $2K'_1$ augmentent ; au contraire les valeurs de $2K_1$ calculées comme s'il n'y avait pas de glucose restent à peu près constantes.

9° Les valeurs de K_2 sont bien constantes *a)* jusqu'à l'hydrolyse de 80 % du maltose dans chaque série, *b)* pour des concentrations variant de 2 à 8 % de maltose.

CHAPITRE III — RECHERCHES SUR L'AMYLASE

L'étude de l'amylase, qui avait été presque complètement délaissée pendant un certain temps, a de nouveau attiré l'attention dans ces dernières années. En effet un certain nombre d'auteurs ont apporté des faits nouveaux relativement à cette diastase, permettant d'espérer qu'on pourra pénétrer davantage dans le mécanisme de son fonctionnement.

On peut classer en trois catégories les dernières recherches relatives à l'amylase :

1° les études de Maquenne, E. Roux, A. Fernbach et Wolff qui ont attiré l'attention sur un phénomène nouveau qu'ils appellent « rétrogradation de l'empois d'amidon ».

2° les recherches récentes relatives à l'influence des électrolyses sur l'action de l'amylase et des autres ferments.

3° quelques études, mais encore incomplètes sur la loi d'action de l'amylase qui ont permis de rapprocher la loi d'action de ce ferment de celles de l'invertine, de l'émulsine et d'autres diastases.

Tout cet ensemble de recherches montre l'intérêt de la question et la nécessité d'en faire une étude systématique.

HISTORIQUE.

§ 1. Etudes sur la constitution des empois d'amidon.

MM. Maquenne et Roux¹ d'une part, A. Fernbach et Wolff² d'autre part ont attiré récemment l'attention sur les modifications qui peuvent se produire au sein d'une solution d'amidon sous l'influence d'un certain nombre de facteurs.

¹ MAQUENNE. Comptes rendus Ac. d. Sc. t. 137, p. 88, 797 et 1266; t. 138, p. 213 et 375; t. 140, p. 1303.

ROUX. Id. t. 140, p. 943, 1259.

² A. FERNBACH ET J. WOLFF. An. de l'Institut Pasteur 1904, p. 165.

Les premiers auteurs ont vu que si l'on maintient aseptiquement pendant quelques jours une gelée homogène d'amidon elle devient peu à peu opaque et dépose des grumeaux. Ces grumeaux seraient de l'amylocellulose, qui ne se colore plus en bleu par l'iode, qui est inattaquable par l'extrait de malt, mais hydrolysable lentement par un acide fort. Si on traite cette amylocellulose par une lessive de potasse elle s'y dissout et cette solution est à nouveau colorable par l'iode.

Cette formation d' « amylocellulose » au sein d'une gelée d'amidon est appelée par MM. Maquenne et Roux *rétrogradation* de l'empois. Elle implique d'après ces auteurs un retour vers un état physique et probablement chimique antérieur à celui de l'amidon dans l'empois. D'ailleurs ils définissent ainsi ce phénomène :

« La *rétrogradation* est le phénomène essentiellement progressif, par suite duquel ce corps tend à reprendre une forme voisine de celle qu'il présente dans l'amidon cru. »

Disons tout de suite que d'après A. Fernbach et Wolff une *rétrogradation* de l'empois se fait aussi et plus rapidement sous l'influence d'une diastase appelée par eux *amylo-coagulase*.

Il se passerait donc normalement des modifications importantes dans la constitution d'un empois d'amidon. Voyons quelles sont les conditions qui permettent ou favorisent cette « *rétrogradation* ».

Préparation de l'amidon rétrogradé. Pour préparer l'amidon rétrogradé, c'est-à-dire pour le séparer de l'amidon non rétrogradé on saccharifie une solution d'empois par un excès d'extrait de malt.

Quand la saccharification est terminée, la liqueur ne se colore plus en bleu par l'iode. On prélève alors 10 cc. de la solution, on y ajoute 20 à 25 gouttes de lessive de potasse concentrée. D'après ce que nous venons de dire l'amidon rétrogradé n'a pas été touché par l'extrait de malt. Il se dissout dans la lessive de potasse et la liqueur saturée par un léger excès de HCl prend

une coloration bleue par l'iode. Il restait donc après une saccharification aussi complète que possible une certaine quantité d'amidon inattaqué. C'est l'amidon rétrogradé. On peut donc le séparer par ce moyen de l'amidon non rétrogradé.

Influence de la durée sur la formation de l'amidon rétrogradé. L'empois d'amidon absolument frais ne renferme que des traces indosables d'amidon rétrogradé, mais la quantité s'en accroit rapidement et un empois d'une heure en contient déjà des proportions notables.

D'après A. Fernbach et Wolff, sous l'influence de l'amylo-coagulase la rétrogradation se fait plus rapidement. En 20' avec cette diastase on en obtient autant qu'en 2^h dans l'empois seul à froid.

Influence de la concentration de l'empois. La rétrogradation se fait d'autant plus facilement que la solution d'empois est plus concentrée. M. Maquenne donne les chiffres suivants :

Fécule employée.	0 ^g ,2	0 ^g ,4	0 ^g ,6	0 ^g ,8	1,0	1,2
Matière soluble formée.	0,1631	0,3106	0,4516	0,5866	0,7186	0,8566
Matière insoluble p. 100 de fécule.	1,7	6,8	10,6	13,1	15,0	15,6

Action de la température. La rétrogradation est d'autant plus rapide et profonde que la température est plus basse. L'amidon rétrogradé insoluble dans l'eau à la température ordinaire peu soluble à 100°, 112° et 125° devient rapidement soluble à 155° et se colore alors en bleu par l'iode.

Action des acides. La rétrogradation est aussi favorisée par la présence des acides minéraux même à la dose de $\frac{1}{10000}$

La quantité d'amidon qui peut ainsi se transformer tend vers une limite qui en milieu neutre à 0° paraît voisine de 30 %.

Action des alcalis. Les alcalis à faibles doses favorisent puis retardent et enfin empêchent la rétrogradation de l'empois. M. Maquenne donne les chiffres suivants :

Potasse en mmg.	0	5,6	28,0	56,0	560
Amid. rétrogradé insol. p. 100.	5,8	10,4	3,6	3,5	0

L'ensemble de ces faits conduit M. Maquenne à une série d'hypothèses sur la constitution de l'amidon cru, sur les mutations de l'amidon dans les plantes.

Ces phénomènes doivent être rattachés aux phénomènes de coagulation des colloïdes, et ces modifications physiques de l'amidon intervenant dans l'action de l'amylase, il était important de les signaler.

§ 2. — Influence des électrolytes sur l'action des diastases.

Deux périodes doivent être distinguées dans les études relatives à ce sujet.

Dans une première période on s'occupa surtout de la réaction du milieu. On sait en effet depuis longtemps que les diastases sont très sensibles à l'action de légères doses d'acide ou d'alcali. D'une façon générale, on a vu qu'en ajoutant des doses faibles et croissantes d'acide à une solution diastasique on obtenait une hydrolyse plus rapide d'abord, puis ralentie ensuite par l'augmentation d'acide jusqu'à une certaine dose, au-delà de laquelle l'action s'accélérait à nouveau. Dans cette seconde partie c'est l'acide seul qui agit ou du moins agit d'une façon prépondérante. Dans la première partie de faibles doses d'acide, incapables de produire une hydrolyse, suffisent à augmenter l'activité de la diastase. D'autre part, si on ajoute des doses croissantes, mais faibles d'alcalis, à une solution faiblement acide ou même neutre de diastase on trouve que l'activité de la diastase diminue graduellement.

Nous renvoyons au traité classique de Duclaux pour l'exposé des travaux sur la question, antérieurs à 1898.

Tout dernièrement encore, Maquenne et Roux¹ d'une part,

¹ MAQUENNE ET ROUX. Comptes rendus Acad. d. Sciences, t. CXLII, p. 124, 1059.

A. Fernbach et Wolff¹ d'autre part revinrent sur cette question de la réaction du milieu en ce qui concerne l'amyrase.

Il ressort des expériences de Maquenne que pour avoir une saccharification rapide de l'empois d'amidon il faut neutraliser exactement l'empois d'amidon vis-à-vis du méthylorange et ajouter à l'extrait de malt une quantité d'acide sulfurique égale au $\frac{1}{3}$ ou au $\frac{1}{5}$ de celle qui pourrait le neutraliser complètement. Non seulement la saccharification est plus rapide mais la réaction est poussée beaucoup plus loin en présence de cette légère dose d'acide de sorte qu'il se produit une quantité de maltose beaucoup plus grande que celle qui est obtenue sans acide. On arrive à une transformation à peu près totale de l'amidon en maltose.

D'autre part, A. Fernbach et Wolff ont constaté de même que si on ajoute progressivement de l'acide aux solutions d'empois additionnées d'extrait de malt, même au cours de la saccharification, en se rapprochant peu à peu de la neutralité au méthylorange, on constate que cette addition accélère la réaction en « facilitant le passage des dextrines à l'état de maltose. »

De cette façon, A. Fernbach et Wolff sont arrivés à des rendements de 103,3 % en maltose, chiffre inférieur seulement de 1,7 % au rendement théorique.

Dans toutes ces recherches les auteurs ont opéré ou sur des ferments végétaux ou sur des ferments animaux retirés du suc pancréatique, de la salive ou de macérations d'organes. Ils ont employé ces sucs tels qu'on les obtient directement. L'addition d'électrolytes dans ce cas produit une modification en plus ou en moins de l'activité du ferment.

On peut adresser à toutes ces recherches une critique générale : c'est que les extraits végétaux ou animaux contiennent en dehors des ferments toute une série d'électrolytes différents. Quand on ajoute un nouvel électrolyte à ces extraits on n'étudie

¹ A. FERNBACH ET WOLFF. Comptes rendus Acad. d. Sciences, p. 1216.

pas l'action de cet électrolyte seul, mais l'action d'un mélange plus ou moins complexe et variable d'une fois à l'autre. L'importance de cette critique a déjà été comprise lors de l'étude de la coagulation du sang et de la pepsine.

On sait en effet que le fibrin-ferment ne peut agir lorsqu'on enlève les sels de calcium qui se trouvent dans le milieu.

De même si on fait une macération neutre des muqueuses de l'estomac bien lavées, de manière que le milieu ne soit pas du tout acide, on obtient un extrait inactif vis-à-vis de l'albumine, extrait qui devient actif si on l'acidifie. De même encore le suc pancréatique bien pur est inactif vis-à-vis de l'albumine et devient actif par l'addition de sels de chaux.

Toutes ces recherches montrent que si l'on veut étudier l'action d'un électrolyte donné sur un ferment, il faut commencer par débarrasser par dialyse la liqueur qui contient le ferment de tous les électrolytes. C'est ensuite sur cette solution dialysée qu'on peut rechercher l'action des différents acides, sels ou bases. Les recherches dans ce sens sur l'amylase ont donné des résultats importants et inattendus.

Bierry, Giaja, Victor Henri¹ ont montré que si l'on débarrasse soigneusement par dialyse le suc pancréatique des sels qu'il contient, ce suc devient absolument inactif vis-à-vis de l'amidon. D'autre part, si on ajoute différents acides ou sels au suc pancréatique dialysé inactif, l'hydrolyse de l'amidon se poursuit régulièrement comme le montre l'exemple suivant :

Température 37°.					Quantités de sucre après 2 ^h .
1 ^o	50 ^{cc}	amidon 2 %	+ 2 ^{cc}	suc pancréatique normal	0,525 sucre
2 ^o	50 ^{cc}	—	—	+ 2 ^{cc} — dialysé	aucune trace de sucre
3 ^o	50 ^c	—	—	+ 2 ^c suc dialysé + 5 ^{cc} eau de mer	0,246
4 ^o	50 ^{cc}	—	—	+ 2 ^{cc} — + 1gNaCl	0,216

Par contre l'amylase végétale semble agir tout aussi bien lorsqu'on dialyse aussi complètement que possible la solution diastasique et la solution d'amidon.

¹ Bierry, Giaja, V. Henri. Comptes rendus Soc. Biologie, 1906, p. 479.

Il y aurait donc ici une différence nette entre l'amyrase du malt et celle du suc pancréatique.

Les interprétations qui avaient été proposées relativement au rôle des électrolytes dans l'action des diastases sont de deux sortes. Un certain nombre d'auteurs avaient admis que les ferments peuvent exister à deux états différents, l'état de pro-ferment et l'état de ferment actif et le passage du premier au second se fait par combinaison avec un électrolyte déterminé :

pro-ferment + électrolyte $\rightarrow$ ferment actif.

Telles sont, par exemple, les opinions de Arthus (pro-fibrin-ferment) et de Langley (pro-pepsine).

Le deuxième point de vue est celui qui résulte du *rapprochement des ferments solubles et des colloïdes*.

D'une part les ferments sont des colloïdes, et on sait d'autre part que les électrolytes exercent des actions sur les colloïdes. On est donc conduit naturellement à penser que l'action des électrolytes sur les ferments se rattache à une question d'ordre beaucoup plus général. Ainsi on sait que les électrolytes peuvent jouer le rôle de mordant dans la fixation d'un colloïde sur un autre colloïde en favorisant sans doute la formation d'un complexe stable.

Larguiers des Bancels¹ a eu l'idée de rapprocher l'action des électrolytes sur les ferments de l'action de mordantage.

V. Henri et Larguiers des Bancels ont en effet montré que quand deux colloïdes sont de stabilités différentes, mais de même signe par exemple gélatine et bleu d'aniline (colloïdes négatifs) l'addition d'un électrolyte capable de précipiter le colloïde instable en fixe une notable proportion sur le colloïde stable. L'électrolyte joue le rôle de mordant.

On peut rattacher à ces actions de mordantage les expériences de Larguiers des Bancels¹ et surtout de Delezenne² sur « l'acti-

¹ *Larguiers des Bancels*, Comptes rendus Soc. Biologie 1905 (8 juillet).

² DELEZENNE. Comptes rendus Soc. Biologie 1905, 18 et 25 novembre. 9 décembre 1906. 23 juin 1907. Comptes rendus Ac. des Sciences, 18 février et 4 mars 1907.

vation » de la trypsine du suc pancréatique par les électrolytes. Delezenne a démontré que la trypsine du suc pancréatique, inactive sur l'albumine, devient active lorsqu'on ajoute des sels de Ca. Il a montré de plus que cette « activation » est liée à la nature de la paroi. Le suc pancréatique dans un tube paraffiné n'est pas actif tandis qu'il l'est dans un tube en verre. Ce sont des réactions qui doivent être rapportées à l'action réciproque des électrolytes et des colloïdes. Cette « activation » des diastases par les électrolytes paraît due dans cette seconde manière de voir à la modification du « pouvoir d'adsorption » des granules diastasiques par l'électrolyte. On voit combien cette hypothèse s'éloigne de la précédente qui suppose une transformation brusque d'un corps inactif en un autre très actif.

L'expérience montre au contraire que l'activité d'une diastase varie d'une façon continue lorsqu'on y ajoute des électrolytes convenables, comme le « pouvoir d'adsorption » d'un colloïde qui varie aussi dans des limites très larges et peut même présenter des maximum et des minimum.

§ 3. — Recherches sur la loi d'action de l'amylase.

La loi d'action de l'amylase, c'est-à-dire la vitesse de saccharification de l'amidon n'a été que très peu étudiée jusqu'ici. Brown et Glendinning¹ ont publié en 1902 un mémoire dans lequel ils annoncent que la vitesse d'apparition du maltose suit une loi en général plus rapide que la loi logarithmique des acides.

Victor Henri² (1903) reprenant cette étude avec différentes amylases trouve au contraire que la valeur de l'expression

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x} \text{ reste bien constante.}$$

Ce même auteur étudie aussi l'action de la quantité d'amidon

¹ BROWN ET GLENDINNING. Journ. of Chem. Soc. 1902, p. 388.

² VICTOR HENRI. Loc. cit.

sur la vitesse d'hydrolyse et trouve à ce point de vue une différence entre l'amylose du malt et celle du suc pancréatique.

Néanmoins il n'a pas été fait jusqu'ici d'étude vraiment systématique de l'action de l'amylose, ce point valait d'être repris.

§ 4. — Position de la question.

Les ferments solubles dont il a été fait jusqu'ici une étude cinétique (invertine, émulsine, maltase) agissent tous, comme nous l'avons vu, sur des cristalloïdes et la réaction consiste en une dislocation de la molécule sans changement d'état physique.

Au contraire lorsque l'amylose agit sur l'amidon elle transforme la solution colloïdale de cette substance en une solution vraie, et elle produit en même temps la dislocation de la molécule. Dans son ensemble la réaction comprend donc deux ordres de phénomènes, les uns physiques, les autres chimiques. On doit se demander si cette particularité n'entraîne pas une loi d'action spéciale aux ferments agissant sur les colloïdes.

L'étude de l'amylose présente l'avantage de pouvoir être suivie d'une façon quantitative ce qui est impossible pour les ferments du même groupe (ferments protéolytiques).

Une remarque doit être faite dès maintenant : on dose en réalité les produits terminaux de la réaction. Il est en effet impossible de doser les produits intermédiaires qu'on désigne sous le nom général de dextrines. J'ai donc suivi la vitesse d'apparition du maltose, seul moyen expérimental d'apprécier la vitesse d'hydrolyse de l'amidon et j'ai pu ainsi comparer :

- 1° la loi d'action de l'amylose et celle de la maltase.
- 2° les actions des amyloses de différentes provenances (animales et végétales).
- 3° l'action de ces amyloses sur l'amidon et sur le glycogène.

CHAPITRE IV — MÉTHODE EXPÉRIMENTALE

POUR L'ÉTUDE DE L'AMYLASE

Les expériences ont été faites à la température de $31^{\circ}5$. L'antiseptique employé est le fluorure de sodium pur, bien neutre en solution à 5 gr. pour 1000. Les amylases employées pour hydrolyser l'amidon sont: 1° une diastase préparée chez Merck dite « diastase absolue », qui contient une amylase extrêmement active.

2° l'amylase du suc pancréatique frais ou desséché.

3° l'amylase contenu dans la « diastase Taka » (Merck).

La diastase absolue de Merck se présente sous forme d'une poudre jaunâtre, facilement soluble dans l'eau. La quantité nécessaire, toujours très petite (0 gr. 05 à peu près) est pesée avec le plus grand soin sur une balance de précision, puis broyée dans un petit mortier spécial avec de l'eau fluorée. Cette solution est filtrée sur un papier filtre ordinaire à plusieurs reprises. Le mortier et le filtre sont soigneusement lavés avec de l'eau fluorée et enfin cette solution est étendue de façon que 10^{cc}, 5^{cc}, 2^{cc}, 1^{cc}, donnent à la liqueur la concentration désirée en diastase, puis placée dans le thermostat pendant 12^h environ pour que la solution atteigne un certain état d'équilibre d'après la technique indiquée par V. Henri.

Dans toutes nos expériences nous avons employé de l'amidon soluble, préparé chez Merck, lequel est entièrement soluble et ne réduisait pas la liqueur de Fehling.

Les solutions sont faites en ajoutant par petites portions l'amidon dans l'eau fluorée en ébullition, on agite continuellement pour qu'il ne se fasse pas de grumeaux et on filtre rapidement à chaud. Toute cette opération ne doit pas demander plus de 3 à 4 minutes. On obtient ainsi une solution colloïdale, d'une belle teinte opalescente, et qui ne précipite pas du tout, même après plusieurs jours. Pour pouvoir

filtrer rapidement on ne peut dépasser la concentration de 3,5 à 4 % en amidon. Cette solution est ensuite répartie dans différents flacons, et étendue avec de l'eau fluorée de façon qu'après l'addition de la diastase on ait exactement la concentration désirée en amidon et en diastase. Toutes les mesures sont faites dans des flacons jaugés après refroidissement de la liqueur.

Les ballons ainsi préparés et bien bouchés sont placés pendant 12^h dans le même thermostat que la solution de diastase.

Après ce temps — jamais aucune des solutions n'avait changé d'aspect, — la diastase est ajoutée avec une pipette et sans sortir aucun flacon du bain. On agite vivement et aussitôt on fait la 1^{re} prise. L'action de la diastase est arrêtée en ajoutant rapidement cette prise à une quantité égale d'eau bouillante, mesurée avec la même pipette. L'expérience m'a montré que dans ces conditions l'hydrolyse est arrêtée immédiatement.

Le dosage par la liqueur de Fehling ferrocyanurée est fait aussitôt après cette opération.

L'hydrolyse de l'amidon est suivie en faisant ainsi des prises à des intervalles réguliers tous les $\frac{1}{4}$ d'heure dans beaucoup de séries, et l'on s'arrange — en diluant la liqueur de Fehling au début, et la solution hydrolysée vers la fin de la réaction — pour que 10^{cc} de liqueur cupro-potassique soient réduits par 8 à 12^{cc} de liqueur sucrée, versés pendant le même temps (2 minutes).

Les valeurs représentant l'hydrolyse complète de l'amidon sont obtenues en prélevant dans chaque ballon aussitôt après l'addition de la diastase, 10^{cc} de la solution, et en y ajoutant 5^{cc} de la solution de diastase. Celle-ci agit alors à une forte concentration qui était toujours constante pour chaque série 1 gr. pour 500.

Des expériences de contrôle faites exprès sur des liqueurs titrées ont montré que les dosages atteignaient une précision très suffisante.

Enfin en faisant les ozazones du sucre obtenu à la fin de l'hydrolyse j'ai toujours vérifié qu'il ne se produit pas de glucose par l'action de la « diastase absolue ». Le sucre obtenu paraissait toujours de l'isomaltose se présentant avec l'aspect décrit par les auteurs.

Je suivais aussi l'hydrolyse par la réaction de l'iode mais tant pour le glycogène que pour l'amidon ce réactif ne donnait plus de coloration bien avant que l'on ait atteint la quantité maximale de sucre qui pouvait être fournie par l'hydrolyse.

RÉSULTATS.

§ 1. — Influence de la concentration en Amidon et en Glycogène.

J'ai étudié : 1° l'influence de la concentration en amidon sur la marche de l'hydrolyse

a) par la « diastase absolue » de Merck ;

b) par la « diastase Taka. »

2° L'influence de la concentration en Glycogène sur la marche de son hydrolyse par la « diastase absolue. »

1° Influence de la concentration en Amidon.

Hydrolyse par la « diastase absolue ». J'ai étudié les concentrations en Amidon telles que :

Amidon 1 $\frac{0}{0}$

Amidon 1 $\frac{4}{2} \frac{0}{0}$

Amidon 2 $\frac{0}{0}$

Amidon 2 $\frac{4}{2} \frac{0}{0}$

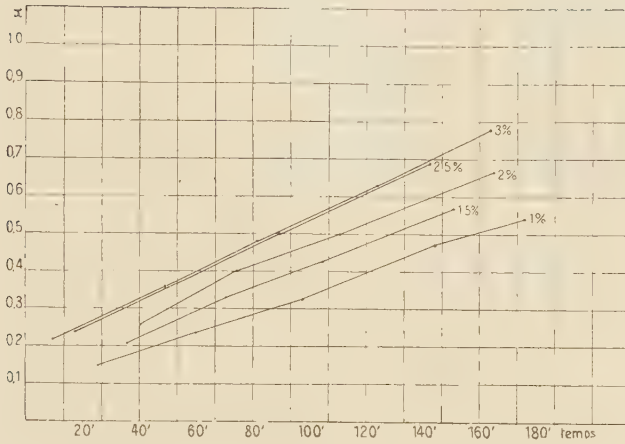
Amidon 3 $\frac{0}{0}$

sur lesquelles je fais agir la diastase à la même concentration.

Voici les résultats d'une série d'expériences dans ce sens : Je donne ici les valeurs de x c'est-à-dire les *quantités absolues* de maltose formé au temps t .

Dates	Concentration en diastase.	Amidon 3 ‰		Amidon 2 1/2 ‰		Amidon 2 ‰		Amidon 1 1/2 ‰		Amidon 1 ‰	
		Durée.	x	Durée.	x	Durée.	x	Durée.	x	Durée.	x
18 janvier	1 p. 2000	3'	0,21	2'	0,20	2'	0,16	—	—	—	—
		13'	0,78	10'	0,92	8'	0,78	—	—	—	—
		23'	1,33	22'	1,42	—	—	—	—	—	—
23 janvier	1 p. 5000	3'	0,42	3'	0,50	—	—	5'	0,42	5'	0,36
		8'	0,63	6'	0,70	—	—	—	—	—	—
		12'	0,70	16'	1,05	—	—	14'	0,63	19'	0,53
		28'	1,24	22'	1,17	—	—	22'	0,94	29'	0,70
		36'	1,86	34'	1,86	—	—	—	—	—	—
1 ^{er} février	1 p. 20000	3'	0,24	3'	0,20	4'	0,22	7'	0,24	7'	0,18
		12'	0,33	10'	0,32	13'	0,26	—	—	—	—
		19'	0,42	22'	0,48	—	—	17'	0,33	17'	0,27
		27'	0,48	—	—	—	—	33'	0,45	30'	0,36
		40'	0,54	—	—	42'	0,60	54'	0,60	42'	0,42
		68'	0,90	64'	0,75	63'	0,78	76'	0,78	—	—
		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17 février	1 p. 50000	11'	0,22	18'	0,25	—	—	—	—	25'	0,15
		48'	0,36	55'	0,38	41'	0,26	35'	0,21	60'	0,24
		82'	0,48	90'	0,50	75'	0,40	68'	0,33	96'	0,33
		126'	0,63	142'	0,70	110'	0,50	105'	0,42	143'	0,47
		166'	0,78	—	—	166'	0,66	150'	0,57	175'	0,54
2 mars	1 p. 40000	17'	0,16	—	—	15'	0,16	—	—	18'	0,11
		39'	0,34	—	—	—	—	—	—	—	—
		54'	0,39	—	—	75'	0,34	—	—	54'	0,26
		163'	0,93	—	—	125'	0,54	—	—	110'	0,36
12 mai	1 p. 25000	—	—	—	—	16'	0,24	—	—	15'	0,31
		—	—	—	—	32'	0,36	—	—	30'	0,40
		—	—	—	—	60'	0,70	—	—	45'	0,52
		—	—	—	—	92'	0,94	—	—	60'	0,58

Si l'on examine par exemple les résultats de l'expérience du 17 février 1905 on voit tout de suite que la concentration en amidon exerce une influence sur la quantité absolue de maltose apparue au bout d'un certain temps. Si en effet nous portons en ordonnées les quantités x de maltose formées, en abscisses, les temps, nous obtenons le graphique suivant :



17 février 1905. Hydrolyses de solutions d'amidon.
Titre en « Diastase absolue » : 1 gr. p. 50000 cc.

Ce graphique montre immédiatement : 1° qu'au début de l'hydrolyse, ici jusqu'à la formation de 0^{gr}8 de maltose les points obtenus pour les concentrations de 3 ‰ et 2,5 ‰ en amidon sont sensiblement sur une même droite, c'est-à-dire que les quantités absolues de maltose apparues au bout de temps égaux sont égales.

2° Les points obtenus pour les concentrations de 2 ‰, 1 1/2 ‰ et 1 ‰ en amidon sont notablement au-dessous des précédents et au-dessous les uns des autres, par ordre de concentration décroissante. Donc les quantités de maltose obtenues sont d'autant moindres que les concentrations initiales en amidon sont plus faibles.

Nous pouvons préciser ces faits en cherchant à l'aide du graphique précédent, ou par un calcul très simple, les quantités de maltose obtenues par exemple au bout de 60 minutes pour chacune des concentrations.

Le tableau précédent (expérience du 17 février 1905) nous indique en effet que pour la série à 3 ‰ d'amidon :

après 48 minutes d'hydrolyse nous avons	0 ^{gr} 36 de maltose
» 82 » » » » »	0 ^{gr} 48 »
soit dans 34 » d'intervalle il s'est formé	0 ^{gr} 12 »

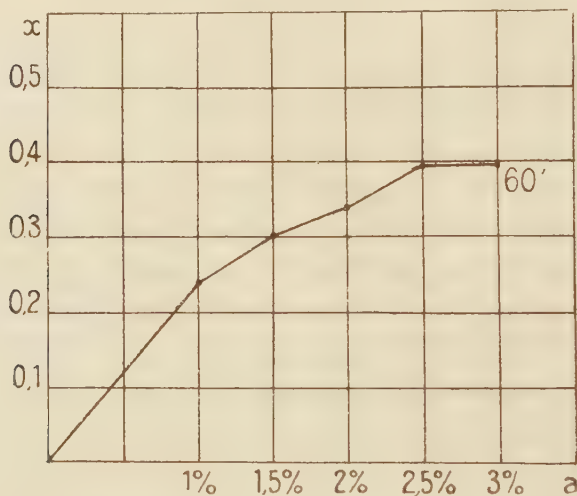
après 60 minutes d'hydrolyse, c'est-à-dire 12' après 48 minutes nous aurions eu

$$0^{\text{g}},36 \text{ maltose} + \frac{0,12 \times 12}{34} = 0^{\text{g}},397 \text{ de maltose.}$$

En faisant de même le calcul pour les autres séries, nous trouvons :

Concentrations.	Quantités de maltose au bout de 60 minutes.
Amidon 1 ‰	0.24
1 1/2 ‰	0.30
2 ‰	0,338
2 1/2 ‰	0.397
3 ‰	0.397

Ce tableau peut se traduire par le graphique suivant :



Influence de la concentration en amidon sur la quantité de maltose obtenue après 60'. Titre en « diastase absolue » 1 p. 50000.

Ce résultat montre d'une façon très nette l'influence de la concentration en amidon.

1° Pour les solutions à 3 ‰ et 2,5 ‰ d'amidon les vitesses d'hydrolyse pendant 60 minutes sont absolument égales.

2° A partir de 2,5 ‰ p. 100 pour les solutions à 2 ‰, 1,5 ‰ et 1 ‰ les vitesses d'hydrolyse décroissent avec la concentration.

Les autres expériences données dans le tableau précédent, examinées de la même façon donnent des résultats tout à fait concordants et de même sens.

Plusieurs auteurs avaient d'abord annoncé qu'une certaine quantité d'amylase transformait dans le même temps une même quantité d'amidon quelle que soit la concentration de la solution en amidon.

Ce résultat fut corrigé par Victor Henri. « Il s'applique à l'amylase du malt, dit cet auteur, lorsque la concentration dépasse 0,75 en amidon soluble pour 100^{cc} d'eau, mais pour des solutions plus faibles la quantité d'amidon influe sur la vitesse d'hydrolyse.

Les chiffres que j'ai obtenus montrent que dans les conditions où j'ai opéré il faut reculer jusque vers 2 1/2 ‰ la limite pour laquelle la quantité d'amidon transformée est indépendante de la concentration. Au-dessous de 2 1/2 ‰ la concentration en amidon exerce une influence très nette sur la vitesse d'hydrolyse. Victor Henri avait signalé à ce point de vue une différence entre l'amylase du malt et celle du suc pancréatique. Pour cette dernière la concentration en amidon à une action très nette jusqu'à la concentration de 2 ‰. J'ai voulu voir si pour une amylase d'origine différente j'obtiendrais des résultats concordants avec les précédents. J'ai choisi pour cette étude une amylase de levures contenue dans la diastase Taka.

Hydrolyse par la diastase Taka. Disons tout de suite que les résultats obtenus sont tout à fait de même sens que ceux obtenus avec l'amylase du malt contenue dans la « diastase absolue. » Voici une série d'expériences du 2 mars 1905. Je donne comme précédemment les valeurs de x c'est-à-dire les *quantités absolues* de maltose formées aux temps indiqués.

2 Mars 1905.

Diastase Taka 1 gr. p. 20000^{cc}.

Amidon 3 %.		Amidon 2 %.		Amidon 1 %.	
Durée.	<i>x</i>	Durée.	<i>x</i>	Durée.	<i>x</i>
19'	0,15	15'	0,16	21'	0,06
39'	0,21	75'	0,22	—	—
55'	0,24	126'	0,32	51'	0,11
134'	0,48	187'	0,40	113'	0,15
208'	0,54	248'	0,50	168'	0,21
275'	0,60	—	—	224'	0,26
382'	0,90	307'	0,56	293'	0,30
453'	1,02	450'	0,80	390'	0,36
540'	1,24	—	—	—	—

Si nous cherchons d'après ce tableau, comme je l'ai indiqué au paragraphe précédent, les quantités de maltose obtenues après des temps égaux, ou dans les premiers stades de l'hydrolyse nous trouvons.

	Amidon 3 %.	Amidon 2 %.	Amidon 1 %.
Quantités de maltose après 39 minutes.	0g,21	0g,18	0g,09
Après 51 minutes.	0g,23	0g,20	0g,11

Ces chiffres montrent 1° qu'entre 2 % et 3 % la concentration exerce encore une certaine influence sur la quantité de maltose formée, mais cette influence est relativement faible.

2° Dans la solution qui contient seulement 1 % d'amidon la quantité de maltose apparue est notablement plus petite que dans les précédentes.

Donc les résultats obtenus avec la « diastase absolue » se retrouvent avec la « diastase Taka » : Dans les conditions où nous étions placés les quantités de maltose formées au bout de temps égaux par une même quantité de diastase sont égales pour des solutions dépassant 2,5 % environ en amidon.

Pour les concentrations inférieures à cette limite, les quantités de maltose formées décroissent à mesure que les concentrations diminuent.

Rappelons que ce résultat a déjà été signalé pour un certain nombre de diastases, notamment pour l'invertine, l'émulsine, l'amygdaline par Victor Henri, la maltase par E.-F. Terroine et moi-même et que, par conséquent la relation entre la quantité d'amidon et la vitesse d'hydrolyse peut s'exprimer par la formule

$$\text{Vitesse initiale} = K \frac{a}{1 + ma}.$$

2° Influence de la concentration en glycogène.

Hydrolyse par la « diastase absolue ». Il était intéressant après cette étude de rechercher si les mêmes phénomènes se reproduiraient dans l'hydrolyse du glycogène par la diastase absolue.

J'ai étudié les concentrations suivantes :

Glycogène	1	0/0
»	2	1/2 0/0
»	5	0/0

sur lesquelles j'ai fait agir une même quantité de diastase.

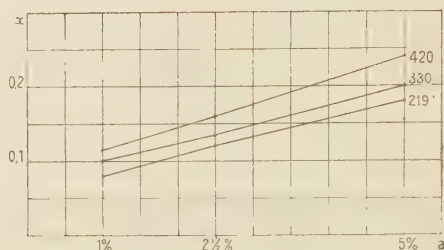
Disons immédiatement que la « diastase absolue », extrêmement active vis-à-vis de l'amidon, l'est beaucoup moins vis-à-vis du glycogène. Je reviendrai sur ce point dans un chapitre ultérieur.

Voici les résultats de l'expérience du 30 juin 1905. Je donne comme précédemment les temps et les valeurs de x , c'est-à-dire les quantités absolues de maltose formé.

« Diastase absolue » 1 p. 25000^{cc}.

Glycogène 1 0/0.		Glycogène 2 1/2 0/0.		Glycogène 5 0/0.	
Durées.	x	Durées.	x	Durées.	x
63'	0g,05	—	—	—	—
213'	0g,08	219'	0g,12	218'	0,18
330'	0g,10	332'	0g,132	330'	0,20
440'	0g,12	420'	0g,154	420'	0,24
560'	0g,15	560'	0g,172	560'	0,28
1530'	0g,16	1530'	0g,188	1530'	0,29

Nous voyons ici, quoique l'hydrolyse se produise lentement, que les quantités de maltose formées après des temps égaux augmentent avec la concentration en glycogène. Si nous traçons un graphique dans lequel nous portons en ordonnées les valeurs de x et en abscisses les concentrations initiales au glycogène c'est-à-dire les valeurs de a , nous obtenons le tracé suivant :



30 juin 1905. Influence de la concentration en glycogène.
Titre en « diastase absolue » 1 p. 25000 cc.

Ce tracé montre que pour des concentrations en glycogène telles que 1, 2 1/2 et 5 %, les quantités de maltose formées par une même quantité de diastase croissent régulièrement avec la concentration.

Donc, dans les limites où j'ai opéré, loin de retrouver la loi des anciens auteurs que la quantité de matière transformée est indépendante de la concentration, je trouve au contraire, que la vitesse d'hydrolyse du glycogène par la « diastase absolue » augmente avec la concentration en glycogène. Nous avons donc ici un phénomène semblable à celui que nous avons trouvé pour les faibles concentrations en amidon.

Il est probable qu'en opérant avec des concentrations plus fortes en glycogène on retrouverait le phénomène indiqué plus haut à savoir la limite à partir de laquelle la quantité de glycogène hydrolysée est indépendante de la concentration. C'est un point que nous nous proposons de compléter. En somme, il paraît

quant à présent que cette limite soit placée plus loin pour le glycogène que pour l'amidon.

Il est important de faire tout de suite une remarque essentielle. En tirant la conclusion de nos expériences nous avons toujours eu soin de dire « dans les conditions où nous étions placés, » car ces conditions peuvent avoir une influence considérable. Rappelons que les expériences de Bierry, Giaja, Victor Henri, relatées plus haut, ont prouvé que la présence des électrolytes influe d'une façon très nette sur l'hydrolyse de l'amidon. En particulier il est possible que la différence entre les résultats obtenus par Victor Henri et les miens quant à la limite à partir de laquelle la quantité d'amidon hydrolysée par l'amylase du malt est indépendante de la concentration en amidon soit due à la présence d'une quantité plus ou moins grande de sels dans nos solutions, que ces sels aient été apportés par la diastase ou par l'amidon soluble.

Un deuxième point à discuter est relatif à la notion de concentration. Elle est bien différente pour l'amidon et pour une solution de sucre. Il y a entre elles toutes les propriétés qui distinguent les colloïdes des solutions vraies. Il y a donc lieu évidemment de tenir compte de l'état colloïdal de l'amidon au moment de discuter l'influence de la concentration en amidon et cette discussion devra être faite au moyen de données récemment acquises sur la concentration des colloïdes.

Nous renvoyons pour cette partie au chapitre relatif aux phénomènes de précipitation de l'amidon par l'amylase.

CHAPITRE V — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN DIASTASE

L'étude de l'influence de la concentration en diastase doit être faite à deux points de vue différents pour l'amylase comme pour toutes les autres diastases :

1° On doit rechercher l'influence de la concentration en diastase sur la vitesse initiale de l'hydrolyse.

2° On doit se demander si la réaction est totale ou non. Pour toute une série de diastases la réaction est totale au moins dans les limites de l'expérience. Tel est le cas de l'invertine, par exemple.

Pour d'autres diastases la réaction s'arrête avant d'être terminée. Dans ce cas cet arrêt peut être dû à différentes causes qui seront discutées dans la suite. Par exemple la diastase peut être fixée ou « adsorbée » par certains produits de la réaction ou bien il peut s'établir un équilibre ainsi que Croft Hill a cru le montrer pour la maltase. Quelle que soit la cause de cet arrêt il est important de se demander quelle est l'influence de la concentration en diastase sur le moment où il se produit, ou en d'autres termes quelle est l'influence de la concentration en diastase sur la quantité de substance transformable.

Nous allons étudier successivement ces deux questions.

Comment doit-on déterminer l'action de la concentration en diastase sur la vitesse d'hydrolyse?

Le procédé employé par la plupart des auteurs consiste à comparer entre elles les quantités de substance transformée après un certain temps.

Or si l'on examine la courbe de l'hydrolyse d'un sucre, on voit qu'elle débute par une partie sensiblement rectiligne correspondant à la transformation de 30 à 40 % du sucre, puis elle s'incurve et devient presque parallèle à l'axe des x , sous l'influence de diverses causes qui ne sont pas en relation directe avec la concentration en diastase.

C'est donc seulement la première partie de la courbe qui est caractéristique de l'activité de la diastase à la concentration donnée, et par conséquent seules ces parties rectilignes doivent être comparées.

Dans certains cas on a pu se servir aussi de la courbe entière, mais ceci n'est possible que si l'on connaît la loi de la vitesse de la réaction. La vitesse est alors caractérisée par une certaine constante et il suffit de comparer entre elles les valeurs de cette constante pour différentes concentrations. Au point de vue physico-chimique, ce procédé est le seul exact, bien supérieur comme précision au précédent.

Lorsque l'invertine agit sur la saccharose, Victor Henri a montré que la vitesse de l'hydrolyse pouvait être caractérisée par la constante

$$2K_1 = \frac{1}{t} \log \frac{a+x}{a-x}.$$

Si l'on compare les valeurs de $2K_1$ lorsque la concentration en diastase devient 2, 4 fois plus grande on voit que ces valeurs sont elles-mêmes 2, 4 fois plus grandes.

Dans le cas de l'amylase la loi de la vitesse de la réaction est compliquée, ainsi que nous le verrons plus loin. On est donc obligé de s'en tenir à la méthode approchée c'est-à-dire de comparer entre elles seulement les vitesses du début de la réaction.

Ceci posé, si l'on appelle x la quantité de maltose obtenue au temps t , et c la concentration en diastase en grammes pour 100^{cc} de la solution, on comprend que, dans la partie rectiligne de la courbe, si la vitesse d'hydrolyse est proportionnelle à la quantité

de diastase le rapport $\frac{x}{c}$ conserve la même valeur pour des temps égaux.

§ 1. — Influence de la concentration en amylase sur la vitesse d'hydrolyse de l'amidon.

Dans le cas de l'amidon pour voir l'influence de la concentration en amylase du malt j'ai préparé des solutions d'amidon identiques entre elles sur lesquelles j'ai fait agir des doses croissantes de diastase. En étudiant les valeurs de $\frac{x}{c}$ dans la partie rectiligne de la courbe d'hydrolyse on peut voir l'influence de la concentration en diastase.

Voici des expériences. Je donne les durées, les valeurs de x , c'est-à-dire les quantités de maltose formées, les valeurs de $\frac{x}{c}$ (c = concentration en diastase pour 100 cc de la solution) :

Amidon 2 %.

13 avril 1905.

Amylase du malt (diast. absolue).

Durées.	0 ^e ,004 p. 400		0 ^e ,002 p. 100		0 ^e ,00433 p. 100	
	x	$\frac{x}{c}$	x	$\frac{x}{c}$	x	$\frac{x}{c}$
16'	0 ^e ,22	55	0 ^e ,14	70	0 ^e ,10	75
30'	0 ,26	65	0 ,18	90	0 ,14	105
46'	0 ,36	90	0 ,24	120	0 ,18	135
62'	0 ,50	125	0 ,29	145	0 ,20	150
75'	0 ,64	160	0 ,34	170	0 ,26	190
90'	0 ,74	185	0 ,38	190	0 ,28	210

12 mai 1905.

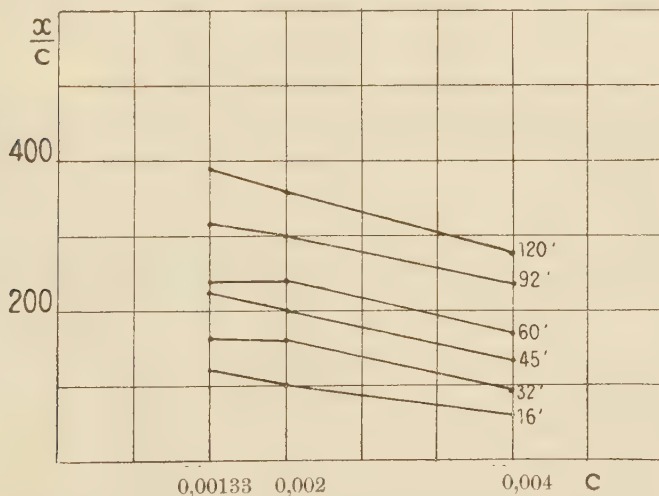
16'	0 ^e ,24	60	0 ^e ,20	100	0 ^e ,16	120
32'	0 ,38	95	0 ,32	160	0 ,22	165
45'	0 ,53	132	0 ,40	200	0 ,27	225
60'	0 ,68	170	0 ,50	250	0 ,32	240
92'	0 ,94	235	0 ,60	300	0 ,42	315
120'	1 ,10	275	0 ,72	360	0 ,52	390

27 juillet,

Diastase absolue.

	0,01 p. 100°		0,004 p. 100°	
	x	$\frac{x}{c}$	x	$\frac{x}{c}$
70'	0g,78	78	0g,50	125

L'examen du tableau précédent montre que les valeurs de $\frac{x}{c}$ au bout de temps égaux augmentent à mesure que la concentration diminue c'est-à-dire que les quantités de maltose formées augmentent moins vite que les concentrations en amylase, la vitesse d'hydrolyse de l'amidon n'est donc pas proportionnelle à la concentration en diastase, entre les limites que nous avons étudiées. Si nous construisons un graphique en portant en ordonnées les valeurs de $\frac{x}{c}$ et en abscisses les concentrations en diastase c nous obtenons pour des temps égaux des droites parallèles entre elles et s'abaissant très lentement vers l'abscisse.



Influence de la concentration en diastase sur l'hydrolyse de l'amidon en solution à 2 %.

Dans ce cas la relation mathématique entre $\frac{x}{c}$ et c n'est pas simple, c'est une équation linéaire de la forme

$$\frac{x}{c} = Ac + B$$

ou bien

$$x = Ac^2 + Bc,$$

dans laquelle A et B sont deux constantes caractéristiques de la réaction qu'il est d'ailleurs facile de déterminer dans chaque cas. Prenons un exemple : dans l'expérience du 12 mai 1905 nous avons après 120' pour $\frac{x}{c}$ et c respectivement les valeurs suivantes :

$\frac{x}{c}$	c
275	0,004
360	0,002
390	0,00133

En appliquant la formule précédente nous avons

$$(1) \quad 275 = A \cdot 0,004 + B.$$

$$(2) \quad 360 = A \cdot 0,002 + B.$$

$$(3) \quad 390 = A \cdot 0,00133 + B.$$

Des deux premières équations on déduit comme valeur de B

$$B = 445.$$

En portant cette valeur de B dans l'équation (2) nous avons

$$360 = A \cdot 0,002 + 445$$

d'où

$$A \cdot 0,002 = -85$$

ou

$$A = -4250.$$

A ayant ici une valeur négative l'équation devra prendre la forme

$$\frac{x}{c} = B - Ac$$

ou

$$x = Bc - Ac^2.$$

Essayons de voir si les valeurs de A et de B que nous venons de trouver s'appliquent à l'équation (3) et nous permettent de retrouver la valeur de $\frac{x}{c}$.

Nous avons

$$\frac{x}{c} = 445 - 4250 \times 0.00133... = 445 - 55,25 = 389,75.$$

Nous retrouvons donc par le calcul exactement la valeur de $\frac{x}{c}$ obtenue expérimentalement qui est 390.

La même concordance se retrouve pour les autres valeurs de $\frac{x}{c}$ aux temps indiqués dans l'expérience.

Nous pouvons donc en conclure que *la relation entre la vitesse d'hydrolyse de l'amidon et la concentration en diastase est de la forme*

$$x = Bc - Ac^2,$$

on voit immédiatement que quand la concentration c est petite le terme $-Ac^2$ devient négligeable et la relation prend alors la forme

$$\text{II} \quad x = Bc,$$

c'est-à-dire qu'alors la vitesse d'hydrolyse est proportionnelle à la quantité de diastase. C'est d'ailleurs ce que nous avons vérifié dans l'expérience suivante :

25 juillet 1905.

Amidon 2 %.

Titre en diastase.	Quant. de maltose après 24 ^h . x	$\frac{x}{c}$
$\frac{1}{1000000} c = 0,0001$ p. 100 ^{cc}	0,08	800
$\frac{1}{800000} c = 0,000125$	0,12	1000
$\frac{1}{500000} c = 0,0002$	0,20	1000
$\frac{1}{400000} c = 0,00025$	0,28	1120
$\frac{1}{250000} c = 0,0004$	0,40	1000
$\frac{1}{200000} c = 0,0005$	0,50	1000

Quoique le dosage n'ait eu lieu qu'après 24^h d'hydrolyse, comme nous avons ici des réactions très lentes les valeurs de x montrent bien que nous sommes encore dans la partie rectiligne de la courbe d'hydrolyse, nous pouvons donc accepter les chiffres précédents et nous voyons que les valeurs de $\frac{x}{c}$ restent bien constantes pour les concentrations faibles en amy-lase.

A mesure que la concentration augmente le terme Ac^2 grandit proportionnellement au carré de c et intervient dans l'équation comme un terme correctif de plus en plus grand; de sorte que la vitesse d'hydrolyse de l'amidon augmente beaucoup moins vite que la concentration en diastase. Cette équation

$$x = Bc - Ac^2$$

ne peut être considérée comme exacte pour toutes les concentrations en diastase. Elle ne s'applique que dans les limites de l'expérience car pour c très grand le terme Bc deviendrait négligeable et on aurait $x = -Ac^2$, c'est-à-dire une valeur négative ce qui ne peut pas être.

§ 2. Influence de la concentration en amylase du malt
sur la vitesse d'hydrolyse du glycogène.

Nous verrons dans le paragraphe suivant que l'hydrolyse du glycogène par l'amylase du malt diffère sensiblement de celle de l'amidon par plusieurs points. Nous dirons seulement maintenant que la concentration en amylase nécessaire pour obtenir un commencement d'hydrolyse est beaucoup plus considérable quand il s'agit du glycogène que quand il s'agit de l'amidon. Ceci explique les fortes concentrations employées dans les expériences qui suivent.

J'ai étudié les concentrations en amylase variant entre 1^{gr} p. 50^{cc} et 1^{gr} p. 25000^{cc} que j'ai fait agir sur des solutions à 2 % de glycogène.

J'appelle comme précédemment x la quantité de maltose au temps t , c la concentration en diastase pour 100^{cc} et je donne les valeurs de x et de $\frac{x}{c}$. Voici les résultats d'une série d'expériences :

Glycogène 2 %.

17 juillet 1905.

Diastase absolue $\frac{1}{650}$			Diastase absolue $\frac{1}{1300}$			Diastase absolue $\frac{1}{6500}$		
Durée	x	$\frac{x}{c}$		x	$\frac{x}{c}$		x	$\frac{x}{c}$
30'	0,64	4,16	30'	0,58	7,54	30'	0,16	14,0
90'	0,78	5,07	92'	0,70	9,1	92'	0,24	15,6

5 juillet 1905.

Diastase absolue $\frac{1}{1000}$			Diastase absolue $\frac{1}{5000}$			Diastase absolue $\frac{1}{10000}$		
$c = 0,1$			$c = 0,02$			$c = 0,01$		
	x	$\frac{x}{c}$		x	$\frac{x}{c}$		x	$\frac{x}{c}$
15'	0,28	2,8	15'	0,14	7	17'	0,08	8,8
30'	0,54	5,4	30'	0,146	7,8	32'	0,12	12
60'	0,62	6,2	90'	0,194	9,7	90'	0,15	15
95'	0,82	8,2	156'	0,22	11,0'	152	0,216	21,6
175'	0,88	8,8						

27 juillet 1905.

Diastase absolue $\frac{1}{1000}$			Diastase absolue $\frac{1}{10000}$			Diastase absolue $\frac{1}{25000}$		
$c = 0,1$			$c = 0,01$			$c = 0,004$		
x	$\frac{x}{c}$		x	$\frac{x}{c}$		x	$\frac{x}{c}$	
60'	0,862	6,2	60'	—	?	78'	0,074	18,5
190'	0,69	7	180'	0,12	12,00	210'	0,076	19,

L'examen des chiffres ci-dessus montre aussi que la valeur du rapport $\frac{x}{c}$ augmente à mesure que la concentration en amy-lase diminue. Donc lorsque l'amy-lase agit sur le glycogène, à des concentrations variant entre $\frac{1}{650}$ et $\frac{1}{25000}$ il n'y a pas de proportionnalité directe entre la quantité de diastase et la vitesse d'hydrolyse. *La quantité de maltose obtenue augmente moins vite que la concentration en diastase.* La loi est-elle la même que celle que nous venons de discuter pour l'amidon?

Nous n'avons pas assez d'expériences pour résoudre la ques-tion, mais il semble d'après les données précédentes que la loi soit différente. En effet, les graphiques obtenus en portant $\frac{x}{c}$ en ordonnées et c en abscisses ne sont pas des lignes droites. Quand on part de faibles concentrations les valeurs de $\frac{x}{c}$ diminuent d'abord rapidement quand la concentration augmente, puis la diminution est moins rapide quoiqu'elle se manifeste tou-jours. Donc il semble qu'on a affaire à une loi plus complexe que celle qui reliait la valeur de $\frac{x}{c}$ à c dans le cas de l'amidon.

D'ailleurs la complexité de la relation entre la concentration en diastase et la quantité d'amidon et de glycogène hydrolysés était déjà indiquée par l'examen des phénomènes qui se passent

dans les solutions. J'ai déjà dit que sous l'influence de la diastase il se produit presque immédiatement ($1/1^h$ au plus) une précipitation de la solution colloïdale d'amidon ou de glycogène. Dans ces conditions la notion de concentration au sens ordinaire du mot n'est qu'illusoire. Si la diastase est entraînée dans le précipité comme semblent l'indiquer les expériences générales sur la précipitation des colloïdes, il est clair que la quantité de diastase mise dans la solution ne représente plus que d'une façon très approximative la concentration de la diastase au lieu même où se fait la transformation, c'est-à-dire dans le précipité.

L'influence de la concentration en diastase telle que nous l'avons trouvée plus haut, est-elle en rapport direct avec ces conditions spéciales ?

Un cas analogue s'est présenté dans l'étude de l'hémolyse.

On sait que l'hémolyse des globules rouges est d'autant plus rapide que ceux-ci adsorbent plus vite l'hémolysine. Il y a parallélisme entre la vitesse d'adsorption de l'hémolysine et la vitesse d'hémolyse des globules rouges ¹.

D'autre part, d'après les expériences de Biltz il semble qu'il y ait une limite à la quantité de colloïde qui peut être adsorbée par une quantité donnée d'un autre colloïde.

En ce qui regarde l'hydrolyse de l'amidon, la quantité de cette substance restant constante, il est possible que pour les faibles concentrations en diastase toute la diastase soit entraînée dans le précipité, formant ainsi un complexe et alors *toute* la diastase agit effectivement. La réaction marche bien proportionnellement à la quantité de diastase. C'est ce que nous avons vérifié expérimentalement.

Pour des concentrations plus élevées en diastase, les granules d'amidon toujours en même quantité n'entraîneraient plus *toute* la diastase, et seule la partie formant un complexe colloïdal hy-

¹ VICTOR HENRI et M^{lle} CERNOVODEANU, Comptes rend. Soc. Biol. 1905, p. 455.

drolyserait effectivement l'amidon, l'autre restant provisoirement inemployée.

On comprendrait alors que l'hydrolyse ne marchât pas proportionnellement à la quantité de diastase mise dans la solution mais *proportionnellement à celle qui est entraînée dans le précipité par une quantité donnée d'amidon et de glycogène*; de même l'hémolyse est proportionnelle à la quantité d'hémolysine adsorbée par les globules. Ceci nous amène directement à la nécessité de l'étude minutieuse de la formation de ce complexe colloïdal amylase + amidon, mais cette étude est extrêmement difficile dans l'état actuel de la science. Elle ne pourra être menée à bien que quand on aura acquis des notions précises sur la formation des complexes entre colloïdes bien définis et directement dosables par l'analyse chimique ou tout autre procédé.

Quoiqu'il en soit nous pouvons retenir les conclusions suivantes.

L'action de l'amylase sur l'amidon n'est pas directement proportionnelle à la quantité de diastase. La relation qui relie la concentration en diastase c à la quantité x de maltose formée est de la forme

$$\frac{x}{c} = B - Ac \quad \text{ou} \quad x = Bc - Ac^2$$

dans laquelle A et B sont deux constantes déterminées par l'expérience.

Dans le cas de l'hydrolyse du glycogène on obtient des résultats de même sens mais il faudrait sans doute faire intervenir une troisième constante dans la relation entre x et c .

Nos expériences n'ont pas pu être assez complètes pour nous permettre d'établir exactement cette relation.

CHAPITRE VI — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN AMYLASE SUR LA QUANTITÉ D'AMIDON ET DE GLYCOGÈNE HYDROLYSABLES

La seconde question qui se pose à propos de l'influence de la concentration en diastase se rapporte à la quantité de substance qui peut être hydrolysée par une certaine quantité de diastase.

J'ai étudié comparativement à ce point de vue l'hydrolyse de l'amidon et du glycogène par l'amylase du malt. Pour cela j'ai préparé une série de flacons contenant une solution d'amidon ou de glycogène à 2 %, sur lesquels j'ai fait agir l'amylase (diastase absolue) à des concentrations régulièrement croissantes. Je laisse l'hydrolyse se poursuivre pendant un temps assez long pour que sa vitesse à ce moment soit presque nulle, c'est-à-dire que la quantité de substance hydrolysée est à ce moment aussi grande qu'elle peut l'être. Ce point est toujours vérifié en faisant de nouveaux dosages après des temps suffisamment longs pour qu'on puisse se rendre compte que l'hydrolyse était devenue extrêmement lente.

Nous allons examiner successivement l'influence de la concentration en amylase sur la quantité d'amidon, puis sur la quantité de glycogène hydrolysables.

ment cités nous obtenons une hydrolyse pratiquement complète de l'amidon. Voici des exemples relatifs à l'hydrolyse de l'amidon à 2 ‰. Les nombres du tableau indiquent les quantités de maltose en grammes dans 100^{cc} de la solution et je ne donne ici que les résultats de dosages à partir de 5^h environ, c'est-à-dire la partie terminale de la réaction.

Amidon 2 ‰.

Diastase absolue 1 p. 25.000.

13 avril.		12 mai.		14 juin.		16 juin.	
Temps.	Quantités de maltose.	Temps.	Quantités de maltose.	Temps.	Quantités de maltose.	Temps.	Quantités de maltose.
345'	1g,80	300'	1g,62	310'	1g,57	300'	1g,58
450	1 ,86	390	1 ,76	330	1 ,62	335	1 ,68
480	1 ,92	420	1 ,84	390	1 ,68	360	1 ,72
510	1 ,96	450	1 ,90	460	1 ,76	390	1 ,76
540	1 ,98	480	1 ,96			450	1 ,80

Ces expériences et beaucoup d'autres semblables prouvent qu'à la concentration de 1^g p. 25000^{cc} en amylase du malt on obtient une hydrolyse pratiquement complète de l'amidon en 8 à 9 heures. Notons ce résultat pour le comparer avec ce que nous obtiendrons à propos de l'hydrolyse du glycogène.

Concentrations faibles en diastase. Si nous étudions maintenant l'hydrolyse de solutions d'amidon sur lesquelles on fait agir des doses très faibles d'amylase nous voyons que la réaction marche très lentement mais elle se continue pourtant régulièrement. Voici des exemples :

25 juillet.

Amidon 2 %.

Titre en diastase.	Quantité de maltose après 24 h.	Quantité de maltose après 49 h. $\frac{1}{2}$.
$\frac{1}{1000000}$	0g,08	0,11
$\frac{1}{800000}$	0 ,12	0,23
$\frac{1}{500000}$	0 ,20	0,30
$\frac{1}{400000}$	0 ,28	0,34
$\frac{1}{250000}$	0 ,40	0,44
$\frac{1}{200000}$	0 ,50	—
$\frac{1}{100000}$	0 ,70	0,74

On voit d'après ces chiffres que l'amylase du malt même à la concentration de 1^g p. 1000000^{cc} est encore capable de transformer une certaine quantité d'amidon en maltose, et l'allure de la courbe montre que cette quantité s'accroît avec le temps.

En somme quelle que soit la concentration en diastase employée il ressort de ces expériences que la transformation de l'amidon par l'amylase du malt ne paraît pas subir d'arrêt complet.

Pour des concentrations suffisamment grandes en diastase la transformation est pratiquement totale. Pour des concentrations faibles la réaction marche lentement, mais se continue régulièrement sans qu'on puisse décider si elle sera totale ou non. En effet d'après la vitesse de la réaction il aurait fallu attendre des semaines et peut-être des mois pour arriver à la transformation de tout l'amidon. On comprend que des séries de si longue durée soient très difficiles à réaliser sans entraîner des causes d'erreur considérables.

§ 2. — Influence de la concentration en amylase du malt sur la quantité de glycogène hydrolysable.

Il nous faut donc, parallèlement à ce que nous avons fait tout à l'heure, nous demander si la transformation du glycogène en maltose est totale ou non.

1° Concentrations très fortes en diastase.

Si l'on fait agir la diastase sur le glycogène à des concentrations très fortes 1 g p. 50^{cc} on peut obtenir après un temps assez long la transformation pratiquement complète du glycogène en maltose. J'ai obtenu les chiffres suivants :

19 juillet 1905.	Glycogène 2 %	+ Diastase absolue	1 g p. 50.	Maltose après 26 ^h	1 g, 80
23 » 1905	»	»	»	» 30 ^h	1 , 76
23 » »	»	»	»	» 50 ^h 1/2	2 , 00

Mais déjà avec des concentrations en diastase pourtant encore très élevées de 1 gr. pour 100 et 1 gr. p. 200 la transformation est poussée moins loin et nous voyons qu'elle ne progresse plus avec le temps.

23 juillet 1905.	Glycogène 2 %	+ « Diastase absolue »	1 g p. 100.	Maltose après 30 ^h	1 g, 54
23 » 1905	»	»	»	» 50 ^h	1 , 76
23 » 1905	»	»	» 200	» 30 ^h	1 , 39
19 » 1905	»	»	»	» 26 ^h	1 , 33

Donc pour obtenir la transformation complète du glycogène en maltose par l'amylase du malt il faut employer des doses massives de diastase 1 g p. 50^{cc} et laisser la réaction se poursuivre pendant un temps assez long 24^h et 48^h.

Concentrations moins élevées. Si nous suivons l'hydrolyse du glycogène pour des concentrations en diastase moindres que 1 p. 50 nous voyons l'effet suivant : La réaction se produit rapidement au début, puis s'arrête brusquement après 1^h d'action

environ et cet arrêt est tel que si l'on attend 24^h et 48^h on est encore loin d'arriver à la quantité de maltose que devrait théoriquement donner le glycogène en solution. La vitesse de la réaction après 1^h est pratiquement nulle. Ce phénomène se traduit sur la courbe de vitesse par une droite qui marche d'abord rapidement puis brusquement devient très sensiblement parallèle à l'axe des x . Il y a donc une limite à la quantité de glycogène qui peut être transformée en maltose par différentes quantités de diastases.

Voici les chiffres et les graphiques.

Glycogène 2 ‰.

19 juillet 1905.

Amylase du malt 1 p. 50.		Amylase du malt 1 p. 200	
Durée.	Quantité de maltose.	Durée.	Quantité de maltose.
30'	1g,25	30'	1g,00
170'	1 ,33	170'	1 ,04
242'	1 ,41	240'	1 ,08
26 ^h	1 ,80	26 ^h	1 ,33

17 juillet 1905.

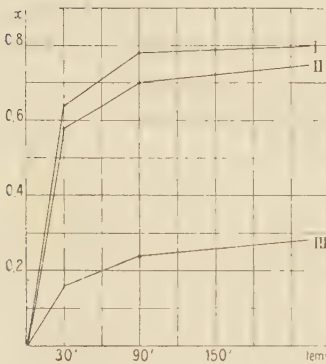
Amyl. du malt 1 p. 650.		Amyl. du malt 1 p. 1300.		Amyl. du malt 1 p. 6500.	
Durée	Quant. de maltose.	Durée.	Quant. de maltose.	Durée.	Quant. de maltose.
30'	0g,64	30'	0g,58	30'	0g,16
90'	0 ,78	— 92'	0 ,70	92'	0 ,24
150'	0 ,79	150'	0 ,72	160'	—
26 ^h	1 ,02	26 ^h	0 ,86	26 ^h	0 ,27

5 juillet 1905.

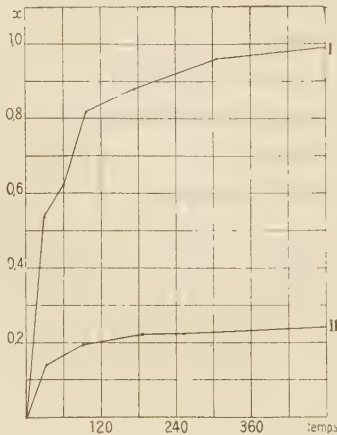
Amyl. du malt 1 p. 1000.		Amyl. du malt 1 p. 5000.		Amyl. du malt 1 p. 10.000.	
		15'	0g,14	17'	0g,088
30'	0g,54	30'	0 ,146	32'	0 ,12
60'	0 ,62	—	—	—	—
95'	0 ,82	90'	0 ,194	90'	0 ,15
175'	0 ,88	156'	0 ,22	152'	0 ,216
305'	0 ,96	255'	0 ,22	275'	0 ,218
18 ^h	1 ,00	48 ^h	0 ,24	48 ^h	0 ,26

27 juillet 1905.

Amyl. du malt 1 p. 1000.		Amyl. du malt 1 p. 10,000.		Amyl. du malt 1 p. 25,000.	
60'	0,62	50'	—	78'	0,07
90'	0,69	180'	0,12	210'	0,076
21h ¹ / ₂	0,74	21h	0,124?	23h	0,07?



17 juillet: Courbes d'hydrolyse d'une solution de glycogène à 2 %
I à 1 p 650^{cc}
par la diastase absolue II à 1 p 1300^{cc}
III à 1 p 6500^{cc}



5 juillet. Hydrolyse du Glycogène en solution à 2 %
par la diastase absolue I 1 p 1000^{cc}
II 1 p 5000^{cc}

La discussion de ces résultats comprend plusieurs points :

1° Quelle est la relation entre la concentration en diastase et la quantité de maltose formé.

L'examen des courbes précédentes montre : 1° que les quantités de glycogène hydrolysées sont d'autant moindres que la concentration en diastase est moindre.

Pour les concentrations variant entre $\frac{1}{10000}$ et $\frac{1}{800}$ (expérience du 23 juillet) les quantités de maltose fournies sont proportionnelles aux concentrations. En effet la valeur du rapport $\frac{x'}{c}$ reste constante.

Pour des concentrations en diastase supérieures à $\frac{1}{800}$ nous ne trouvons plus la même proportionnalité, les quantités de maltose formées croissent moins vite que la concentration.

L'allure spéciale de ces courbes montre aussi qu'on a affaire à une réaction limitée. En effet quelle que soit la concentration en diastase après une montée rapide, la courbe reste sensiblement parallèle à l'axe des x c'est-à-dire la vitesse d'hydrolyse d'abord très grande devient pratiquement nulle quoiqu'on soit encore loin du rendement théorique du glycogène en maltose. Les dosages faits après 26^h, 48^h et même 72^h montrent bien que ce rendement théorique ne sera jamais atteint.

2° Le glycogène non transformé en maltose reste-t-il dans la solution à l'état de glycogène? Je ne le crois pas car la substance qui reste dans la solution ne se colore pas par l'iode ainsi que je l'ai noté dans les expériences précédentes. Mais cette substance précipite par l'alcool. Ce n'est donc ni du sucre ni du glycogène. Il est possible qu'on ait affaire à des substances analogues aux dextrines. Il serait intéressant de rechercher à quel état se trouve cette substance; c'est un point que je me propose de compléter.

Expériences de discussion. 3° A quelle cause doit-on rapporter l'arrêt qui se produit dans l'hydrolyse du glycogène?

On peut d'abord penser que le ferment a perdu toute son activité ou qu'il a été détruit, ce point peut être d'abord contrôlé par des expériences. Dans ce but j'ai fait deux solutions de glycogène à 2 ‰ sur lesquelles je fais agir la diastase à la concentration de 1^{er} p. 2500. Je suis l'hydrolyse. Au bout de 425' je vois que la vitesse de la réaction est très lente, j'ajoute alors à l'un des flacons une solution d'amidon de manière à avoir.

Amidon 2 ‰ + Glycogène 0,73 + Maltose 0 g 26 + « Diastase absolue » 1 g. p. 500

et je continue à suivre l'hydrolyse. Voici les résultats.

8 juillet 1906.

Glycogène 2 % + « Diastase absolue » 1 p. 2500.

Série I.		Série II.		
Temps.	Quantités de maltose.	Temps.	Quantités de maltose.	
30'	0g,32	—	—	
60'	0 ,35	—	—	
130'	0 ,41	130'	0g,45	
245'	0 ,45	190'	0 ,49	
390'	0 ,54	265'	0 ,54	
—	—	370'	0 ,54	
—	—	425'	ajouté amidon	
—	—		à la solution.	
—	—		Amidon 2% Glycogène 0,73	
—	—		+ Maltose 0,26, Diast. 1/500.	
—	—			Maltose formé après addition d'amidon.
—	—	515'	0g,62	0g,32
72h	0 ,66	72h	1 ,32	1 ,06

On voit qu'après l'addition d'amidon il s'est formé une nouvelle quantité de maltose égale à 0^g32 et 1^g06 dans la série II, tandis que dans la série I on n'a au bout de 72^h que 0^g66 de maltose, l'hydrolyse n'ayant progressé que de 0^g12 en 66^h environ.

L'amylase qui n'agit plus sur le glycogène est donc encore active vis-à-vis de l'amidon.

Voici une autre expérience qui prouve que la diastase peut conserver son activité pendant un temps beaucoup plus long.

Je fais une solution de glycogène à 2 % sur laquelle je fais agir la solution de diastase à la concentration de 1^g p. 50^{cc}. Je suis l'hydrolyse. Au bout de 26^h à 5^{cc} de la solution précédente, j'ajoute dans un premier flacon 15^{cc} d'une solution contenant 0^g4 de Glycogène ce qui donne

Glycogène 2 % + Diastase absolue $\frac{1}{200}$ + Maltose 0^g45.

Dans un second flacon à 5^{cc} de la même solution j'ajoute 15^{cc} d'une solution contenant 0^g4 d'amidon ce qui donne

Amidon 2 % + Diastase absolue $\frac{1}{200}$ + Maltose 0^g,45
et je suis à nouveau l'hydrolyse.

Voici les résultats de l'expérience.

19 juillet 1905.

Glycogène 2 % + Diastase absolue 1^g p. 50.

Temps.	x
30'	1 ^g ,25
170'	1 ,33
242'	1 ,41
26 ^h	1 ,80

Addition de glycogène.

Addition d'amidon.

Glycogène 2 % + D. absolue $\frac{1}{200}$ + maltose 0,45.			Amidon 2 % + D. absolue $\frac{1}{200}$ + maltose 0,45.		
Temps apres addition de glycogène.	x	Quant. de maltose formé apres l'addition de glycogène.	Temps apres addition d'amidon	x	Quant. de maltose formé apres l'addition d'amidon.
60'	1 ^g ,08	0 ^g ,63	64'	1 ^g ,55	1 ^g ,10
250'	1 ,30	0 ,85	250'	1 ,65	1 ,20

Ce nouvel exemple montre que l'amylase du malt restée 26^h en présence du glycogène et des produits de la réaction est encore capable d'hydrolyser une nouvelle quantité de glycogène ou une nouvelle quantité d'amidon, ces quantités étant égales à 0^g63 et 0^g85 pour le glycogène, 1^g10, et 1^g20 pour l'amidon.

Je ferai même remarquer que les quantités de glycogène ainsi formées ne sont pas beaucoup inférieures à celles que fournit l'amylase à la concentration de $\frac{1}{200}$ dans une première hydrolyse du glycogène. En effet, si nous comparons ces chiffres avec ceux de l'expérience du 19 juillet donnée plus haut nous avons

19 juillet.

I			II		
Glycogène 2 % . Amylase $\frac{1}{200}$.			Glycogène 2 % + Maltose 0,45 + Amylase $\frac{1}{200}$.		
	Maltose.			Maltose formé.	
240'	1 ^g ,08		250'	0 ^g ,85	

Si l'on tient compte de la présence du maltose dans la solution II, lequel comme tous les produits de la réaction retarde certainement l'hydrolyse on voit que la diastase a conservé sensiblement la même activité après être restée 26^h en solution en présence du glycogène. Donc l'arrêt qui se produit dans l'hydrolyse du glycogène n'est pas dû à la destruction ou à un affaiblissement de la diastase.

A quelle cause doit-on rapporter cet arrêt ?

On connaît d'autres diastases qui ont aussi une action limitée : tel est le cas du lab et de la pepsine.

En ce qui concerne le lab, Spiro, Reichert ont montré dernièrement que sa limite d'action était due à ce que le ferment est adsorbé par le caillot à mesure de la coagulation et cette adsorption limite la quantité de lait qui peut être coagulée par une certaine quantité de lab.

De même l'hémolyse des globules rouges est une réaction limitée à cause de l'adsorption de l'hémolysine par les globules.

En ce qui concerne l'amylose agissant sur le glycogène il ne paraît pas que l'arrêt puisse être rapporté à la même cause puisque le ferment est capable d'agir sur du nouveau glycogène ce qui ne se produit pas pour le lab et les hémolysines, qui fixés n'agissent plus sur une nouvelle quantité de lait ou de globules rouges. Par conséquent l'arrêt de l'hydrolyse n'est pas dû à une adsorption. On ne pourrait faire sur ce sujet que des hypothèses analogues à celles que l'on a faites pour expliquer la saccharification de l'amidon par l'amylose, mais ce sont des hypothèses absolument gratuites, qui ne résultent pas des expériences et que par conséquent, nous nous abstenons de présenter ici.

Conclusion générale du chapitre :

On voit donc qu'il y a une différence entre l'hydrolyse du glycogène et de l'amidon par amylose du malt.

Nous avons en effet vu que :

I

1° Pour une concentration en amylase du malt égale à 1^g p. 25000^{cc} on arrive en 8 à 9^h à une saccharification pratiquement complète de l'amidon.

2° Pour des concentrations très faibles en amylase, l'hydrolyse de l'amidon est lente mais ne paraît pas subir d'arrêt.

II

Au contraire quand l'amylase du malt agit sur le glycogène,

1° il faut employer des concentrations massives d'amylase, 1^g p. 50^{cc} pour avoir une hydrolyse pratiquement totale du glycogène.

2° Pour les concentrations moins élevées à partir de 1^g p. 100 en diastase la réaction subit un arrêt.

3° La quantité de glycogène hydrolysée dépend de la concentration en diastase.

Pour les concentrations comprises entre $\frac{1}{40000}$ et $\frac{1}{800}$ les quantités de maltose formées sont proportionnelles aux concentrations. Au-dessus de $\frac{1}{800}$ la même proportionnalité ne se retrouve pas.

4° L'arrêt dans l'hydrolyse ne peut être attribué à la destruction ou à l'affaiblissement de la diastase car elle conserve encore sensiblement la même activité après 26^h d'action si on la met en présence d'une nouvelle quantité de glycogène.

5° Le glycogène non transformé en maltose n'est plus à l'état de glycogène dans la solution qui ne se colore plus en brun par l'iode, mais précipite encore par l'alcool.

CHAPITRE VII — LOI D'ACTION DE L'AMYLASE

§ 1. Loi de la vitesse de l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase.

Une des méthodes les plus générales, employées par les physico-chimistes pour étudier une réaction, consiste à étudier la vitesse avec laquelle se produit cette réaction. L'étude de cette vitesse a permis de décider, dans un grand nombre de cas, si l'on avait affaire à une réaction simple ou à une réaction complexe comportant des stades intermédiaires et par là d'arriver à la connaissance de ces stades et du processus intime de la réaction. Pour étudier la vitesse d'une réaction il faut d'abord établir les conditions expérimentales dans lesquelles cette réaction se produit d'une façon régulière et toujours comparable.

Lorsqu'on a établi le dispositif expérimental qui naturellement varie suivant le cas, il faut faire à des intervalles réguliers suffisamment rapprochés une série de dosages qui indiquent à ce moment précis l'état de la réaction. On obtient ainsi une série de points qui réunis entre eux donnent l'allure générale du phénomène.

Dans le cas qui nous occupe, c'est-à-dire pour étudier l'action de l'amylase sur l'amidon on se trouvait en présence de difficultés beaucoup plus grandes que celles qu'on rencontre dans l'étude de l'hydrolyse d'un sucre, aussi n'est-ce qu'à la suite d'expériences répétées que je suis arrivée à obtenir des résultats suffisamment réguliers.

Quand la technique fut assez bien établie, ainsi qu'elle a été décrite précédemment, pour que les variations ne puissent plus

être attribuées à des erreurs de méthode, nous avons vu que la loi de l'hydrolyse de l'amidon ne suit pas une loi simple. L'une des plus grandes difficultés de cette étude consiste dans la nécessité de suivre pendant longtemps la réaction en faisant des prises très rapprochées. Comme on a affaire à des solutions opalescentes on ne peut avoir recours au polarimètre pour doser la quantité de sucre. Il faut donc doser par la liqueur de Fehling et tous ceux qui ont employé cette méthode savent de quelles précautions il faut s'entourer pour avoir des résultats exacts et comparables entre eux. C'est ainsi que notre liqueur de Fehling ne devait jamais être laissée en présence de l'air, même en quantité minime, pendant plusieurs heures. Pour tous les dosages d'une même journée j'employais toujours la même liqueur de Fehling. J'en préparais 1 litre à la fois qui était distribué dans de petits flacons et un seul servait aux dosages d'une expérience entière.

De plus, étant donnée la faible teneur en sucre des solutions au début de la réaction il fallait d'abord diluer 10 fois le réactif cupro-potassique puis employer des solutions de moins en moins diluées et vers la fin de la réaction les solutions étudiées devenant plus concentrées en sucres devaient être diluées à leur tour. On sait combien sont délicates ces opérations pour qu'elles n'apportent pas de causes d'erreurs considérables. Aussi ai-je toujours opéré dans des flacons jaugés, faisant les prises toujours avec la même pipette et de la même façon (sans souffler dans la pipette).

Si j'ajoute que ces prises sont faites pendant 8 à 10 heures consécutives, d'abord tous les quarts d'heure puis toutes les demi-heures, que l'impossibilité de doser la diastase oblige à faire toujours plusieurs séries comparables avec la même solution d'amylase, on verra que la prise, l'arrêt de la réaction, la dilution, et le dosage ne devaient pas me demander plus de cinq minutes, et tous ceux qui ont fait de nombreux dosages par cette méthode savent combien elle est, à la longue, fatigante. J'ajou-

terai que le phénomène étudié nécessitait toute la précision que pouvaient donner ces dosages.

On sait en effet que le degré d'approximation atteint quant à la quantité de solution sucrée qui réduit 10^{cc} de liqueur de Fehling ne peut guère dépasser deux dixièmes de centimètre cube. Supposons que dans l'expérience du 14 juin 1905 par exemple j'aie fait une erreur en plus de 2 dixièmes dans le dosage fait au bout de 120'.

Je trouve que 10^{cc} de liqueur de Fehling sont réduits par 10^{cc} de solution sucrée. Supposons que j'aie trouvé 10^{cc}.4. Ceci donne comme valeur de $\frac{x}{a}$ dans le 1^{er} cas 0,478 $\frac{x}{a}$ dans le 2^{me} cas 0,45.

Si je cherche d'après ces nombres la valeur de

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a - x}.$$

Je trouve dans le 1^{er} cas 0,00235

 dans le 2^{me} cas 0,00208

On voit donc que non seulement il fallait suivre longtemps l'hydrolyse, faire beaucoup de dosages, mais il fallait encore que ces dosages soient très précis. Néanmoins on peut arriver à surmonter ces difficultés avec un peu de patience et d'exercice. Il en restait d'un autre ordre.

Lorsque les résultats expérimentaux furent suffisamment réguliers, je pus tracer la courbe représentant les vitesses d'hydrolyse et il restait à rechercher la loi suivant laquelle se produit cette hydrolyse.

La première loi à laquelle on pense est la loi logarithmique employée par beaucoup d'auteurs pour étudier un grand nombre de réactions.

Il arrive que la loi logarithmique ne s'applique pas exactement à l'hydrolyse de l'amidon. Le calcul de la valeur de K donne des

résultats variables et compliqués qui seront exposés plus loin. Le problème apparaît donc comme complexe.

Etant donné que la loi logarithmique ne s'applique pas d'une façon complète il fallait rechercher une autre expression. Victor Henri a bien voulu rechercher des expressions mathématiques mais elles étaient toujours très complexes étant représentées par des sommes d'exponentielles de sorte que le calcul des constantes devenait très laborieux.

Ne trouvant pas d'expression mathématique simple qui puisse représenter la courbe dans toute son étendue devait-on abandonner l'étude de la loi d'action?

Non, bien entendu, car il est néanmoins possible d'étudier la vitesse de la réaction par un moyen moins direct; ce moyen est d'ailleurs une méthode d'investigation employée par les physiciens et en particulier ces dernières années par M. Curie ¹ dans l'étude de la disparition de la radiation induite.

En effet on peut discuter la loi d'un phénomène en étudiant la manière dont varie la valeur de

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}.$$

Que signifie la valeur de k ?

Rappelons qu'elle représente à chaque instant la *vitesse relative* de la réaction, c'est-à-dire la *proportion* par minute d'amidon transformé.

Si la valeur de K est la même à différents moments, pendant toute la durée de la réaction, c'est que la *vitesse relative* est la constante.

Il est nécessaire d'abord d'insister sur la signification de la formule logarithmique dans le cas de l'amidon.

En effet dans la formule

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}.$$

¹ P. CURIE, Journal de Chimie-Physique. 1904.

a représente quantité totale du corps à transformer qui se trouve au début de la réaction et $a - x$ la quantité du corps à transformer qui reste au temps t .

Dans le cas de l'amidon j'ai dosé le maltose; a représente la quantité totale de maltose qui apparaît à la fin de la réaction, x la quantité de maltose au temps t . Il y a là une différence que je signale dès le début.

Au point de vue théorique il eut été nécessaire de doser à chaque instant la quantité d'amidon présente dans la solution, mais pratiquement on ne connaît aucun dosage quantitatif direct de l'amidon, donc c'était impossible. On est obligé de s'en tenir à l'estimation du maltose ce qui ne donne qu'une face du problème.

Lorsqu'on calcule les valeurs de K pendant toute la durée d'une hydrolyse, en faisant des prises suffisamment rapprochées, on voit que toujours ces valeurs sont plus grandes au début que vers le milieu et la fin de la réaction.

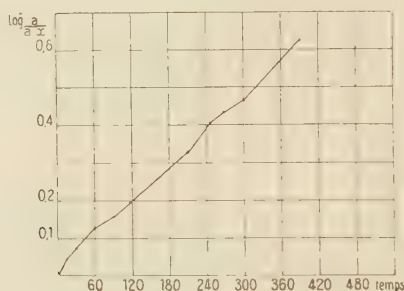
Ainsi par exemple dans une hydrolyse du 12 mai 1905 nous trouvons les valeurs suivantes :

Amidon 2 0/0. Diastase absolue 1 g. p. 50000^{cc}.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$\text{Log } \frac{a}{a-x}$	$K = \frac{1}{t} \text{ Log } \frac{a}{a-x}$
25'	0,10	0,04576	0,00305
31'	0,16	0,07572	0,00244
60'	0,25	0,12494	0,00208
90'	0,30	0,15490	0,00172
120'	0,36	0,19382	0,00161
210'	0,53	0,32790	0,00156
246'	0,61	0,40894	0,00166
270'	0,63	0,43180	0,00160
300'	0,66	0,46852	0,00156
390'	0,76	0,62979	0,00161
420'	0,82	0,74473	0,00177
450'	0,84	0,79588	0,00177
485'	0,87	0,85387	0,00176

On voit qu'au bout de 15', 31', 60' et 90' les valeurs de k , c'est-à-dire les vitesses *relatives* d'hydrolyse vont en décroissant de 0.00305 à 0.00172. A partir de ce moment la valeur de k reste bien constante.

On retrouve le même phénomène si, au lieu de considérer les valeurs de k on considère celles du $\text{Log } \frac{a}{a-x}$. Si nous avons affaire à une courbe logarithmique comme l'hydrolyse d'un sucre par un acide nous verrions les valeurs de $\text{Log } \frac{a}{a-x}$ croître proportionnellement aux temps et portant sur un graphique les valeurs de $\text{Log } \frac{a}{a-x}$ en ordonnées et les temps en abscisses nous aurions une ligne droite. Dans le cas de l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase du malt nous avons le tracé suivant :



12 mai. Valeurs du $\text{Log } \frac{a}{a-x}$ en fonction du temps.

Nous voyons que ce tracé débute par une partie courbe qui correspond à l'hydrolyse de 30 % d'amidon et se continue par une ligne droite, c'est-à-dire que les valeurs du $\log \frac{a}{a-x}$ ne sont proportionnelles au temps que pour la partie droite du tracé.

Cette allure des valeurs de k est tout à fait générale, je l'ai trouvée pour un grand nombre de séries dont les résultats sont donnés dans les tableaux ci-après.

§ 2. — Loi de la vitesse d'hydrolyse par la « Diastase Taka. »

J'ai dit précédemment que j'ai étudié également l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase contenue dans la « Diastase Taka. »

La loi de la vitesse d'hydrolyse par cette amylase de levures est exactement la même que celle de l'amylase de malt.

Voici les résultats d'une série du 6 mai 1907.

Amidon 2 0/0. Diastase Taka 1 g. p. 5000.

Durée.	$\frac{x}{a}$	$\text{Log } \frac{a}{a-x}$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
15'	0,07	0,03152	0,00210
30	0,09	0,04095	0,00136
45'	0,12	0,05552	0,00123
60'	0,16	0,07572	0,00126
210'	0,36	0,19382	0,00092
240'	0,41	0,22915	0,00096
270'	0,44	0,26181	0,00096
302'	0,49	0,29243	0,00096
332'	0,53	0,32790	0,00098
360'	0,57	0,36652	0,00102
390'	0,60	0,39794	0,00102
420'	0,61	0,40894	0,00097
480'	0,62	0,42022	0,00096
540'	0,63	0,43180	0,00082

Nous retrouvons dans cette série le phénomène signalé plus haut pour la loi de la vitesse d'hydrolyse par l'amylase du malt.

Les valeurs de k obtenues après 15', 30', 45' et 60' diminuent rapidement, c'est-à-dire qu'à cette période la *vitesse relative* de l'hydrolyse décroît de 0,00210 jusqu'à 0,00126.

A partir de 210' la valeur de k reste absolument constante et égale à 0,0096 environ.

Cette série et un certain nombre d'autres nous ont montré que la *vitesse relative de l'hydrolyse décroît jusqu'à ce que 50 0/0 de l'amidon soient transformés, puis reste constante jusqu'à la fin de la réaction.*

Des expériences comparatives nous ont d'ailleurs montré que pour des concentrations bien choisies les vitesses d'hydrolyses par la diastase Taka et par l'amylase du malt sont *exactement*

les mêmes. Les courbes de vitesses se confondent comme le montre l'exemple suivant :

16 mars 1905.

Amidon 2 % + « Diastase absolue » 1 p. 25000^{cc}.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$\text{Log } \frac{a}{a-x}$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
15'	0,08	0,03621	0,00241
30	0,14	0,06550	0,00217
45	0,18	0,08618	0,00191
60	0,22	0,10791	0,00180
75	0,26	0,13077	0,00174
90	0,31	0,16115	0,00179
105	0,32	0,16749	0,00160
120	0,35	0,18709	0,00156
150	0,40	0,22185	0,00141
180	0,44	0,25181	0,00140
210	0,49	0,29243	0,00140
240	0,52	0,31876	0,00133
270	0,55	0,34679	0,00128
300	0,66	0,46852	0,00156
420	0,67	0,48149	0,00114
450	—	—	—
480	0,68	0,49485	0,00103

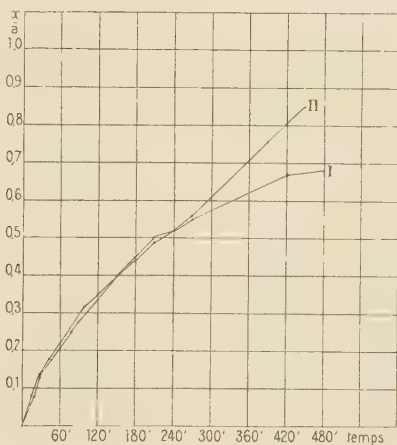
Amidon 2 % + Diastase « Taka » 1 p. 5000.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$\text{Log } \frac{a}{a-x}$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
15'	0,08	0,03621	0,00241
30	0,14	0,06550	0,00217
40	0,17	0,08092	0,00176
60	0,21	0,10237	0,00170
75	0,26	0,13076	0,00174
90	0,28	0,14267	0,00158
120	0,35	0,18709	0,00156
150	0,41	0,22915	0,00153
180	0,46	0,26761	0,00148
210	0,50	0,30103	0,00130
242	0,52	0,31876	0,00132
270	0,56	0,35655	0,00130
390	0,76	0,61978	0,00150
420	0,83	0,76955	0,00180
450	0,85	0,82391	0,00180

Nous voyons que jusqu'à l'hydrolyse de 0,56 de l'amidon, les courbes se superposent. La séparation qui se produit ensuite est due à la présence de la maltase dans la diastase Taka, laquelle agit d'ailleurs faiblement à cette concentration. Mais évidemment la comparaison doit cesser aussitôt que l'action se manifeste.

Puisque les deux courbes d'hydrolyse se superposent on doit en conclure que les deux ferments suivent la même loi.

Il résulte donc de ces expériences que l'hydrolyse de l'amidon



Amidon 2 % I Hydrolyse par la « Diastase absolue » 1 gr., p. 25000^{cc}
II — — — « Diastase Taka » 1 gr., p. 5000^{cc}

soluble par l'amylase du malt ou l'amylase de la diastase Taka se produit suivant une loi complexe. Au début la vitesse relative de l'hydrolyse va en décroissant jusqu'à la transformation d'environ 25 à 30 % d'amidon et à partir de ce moment la vitesse relative reste constante jusqu'à la transformation de 90 et même 94 % de l'amidon. Il y a donc lieu de distinguer dans la transformation de l'amidon la vitesse initiale et la vitesse de la région moyenne. La vitesse *relative* du début est presque deux fois plus grande que celle de la deuxième partie de la réaction.

Rappelons que Brown et Glendening ont trouvé que l'hydrolyse de l'amidon par l'extrait de malt est plus rapide que ne l'indique la loi logarithmique, mais ces auteurs opèrent dans des conditions telles que l'hydrolyse est très rapide : 1° la température est élevée, 51° à 52° ; la concentration en diastase est assez forte, 0^{cc}25 à 1^{cc} d'amylase du malt dans 100^{cc} d'une solution d'amidon à 3 % . L'hydrolyse est pratiquement complète en 2^h ¹/₂.

Enfin les expériences de Maquenne et Roux ont prouvé toute l'influence que peuvent avoir sur la saccharification de l'amidon des quantités minimales d'acide ou d'alcali. Il est possible que l'extrait de malt employé par Brown et Glendening plus ou moins acide ou alcalin ait influencé par là la marche de l'hydrolyse. Victor Henri fit aussi en 1902 des recherches sur la loi d'action de l'amylase du malt. Il trouve que la valeur de K reste bien constante, c'est-à-dire que la marche de la réaction est bien logarithmique. Il est difficile de dire à quoi tient la différence entre les résultats de Victor Henri et les miens. Il est possible qu'elle soit imputable à la différence de la température d'hydrolyse, qui est de 25° pour les expériences de Victor Henri, de 31°5 dans les miennes. Il est possible qu'elle soit aussi imputable à une différence dans la préparation de l'amidon employé par Victor Henri et par moi. Victor Henri dit en effet que l'amidon employé par lui réduisait un peu la liqueur de Fehling, le mien ne la réduisait pas.

Enfin l'étude de Victor Henri portant sur plusieurs diastases, en particulier l'invertine, l'émulsine, l'amygdaline et l'amylase, cet auteur n'avait pas dirigé spécialement ses recherches sur la phase du début de l'hydrolyse de l'amidon et le phénomène décrit plus haut ne peut être vu qu'après une analyse détaillée sur ce point.

CHAPITRE VIII — TABLE DES RÉSULTATS

2 mars 1905.

Amidon 1 % + Diastase

Taka 1 p. 20,000.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
21'	0,06	0,00123
51'	0,11	0,00100
113'	0,15	0,00062
168'	0,21	0,00061
224'	0,26	0,00058
293'	0,30	0,00052
390'	0,36	0,00050

Amidon 2 % + Diastase

Taka 1 p. 20,000.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
19'	0,05	0,00117
39'	0,07	0,00079
55'	0,08	0,00066
134'	0,16	0,00056
208'	0,18	0,00041
275'	0,20	0,00035
382'	0,30 (?)	0,00047
453'	0,34	0,00037
540'	0,40	0,00041

Amidon 3 % + Diastase Taka 1 p. 20,000.

Durées	$\frac{x}{a}$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
15'	0,08	0,00241
75'	0,11	0,00067
126'	0,16	0,00060
187'	0,20	0,00054
248'	0,25	0,00050
307'	0,28	0,00046
450'	0,40	0,00041

16 mars 1905.

6 mai 1905.

Amidon 2⁰/₀ Diastase Taka 1 p. 5000.Amidon 2⁰/₀ Diastase Taka 1p. 5000.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
15'	0,08	0,00241
30'	0,14	0,00217
46'	0,17	0,00176
60'	0,21	0,00170
75'	0,26	0,00174
90'	0,28	0,00158
120'	0,35	0,00156
150'	0,41	0,00153
180'	0,46	0,00148
210'	0,50	0,00130
242'	0,52	0,00132
270'	0,56	0,00130
390'	0,76	0,00150
420'	0,83	0,00180
450'	0,85	0,00180

Durées.	$\frac{x}{a}$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
15'	0,07	0,00210
30'	0,09	0,00136
45'	0,12	0,00123
60'	0,16	0,00126
210'	0,36	0,00092
240'	0,41	0,00096
270'	0,44	0,00096
302'	0,49	0,00096
332'	0,53	0,00098
360'	0,57	0,00102
390'	0,60	0,00102
420'	0,61	0,00097
480'	0,62	0,00096
540'	0,63	0,00082

18 mai 1906.

Amidon 2⁰/₀ + Diastase Taka 1 p. 5000.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
16'	0,112	0,00322
30'	0,195	0,00314
45'	0,321	0,00358
60'	0,338	0,00298
92'	0,390	0,00233
121'	0,435	0,00205
180'	0,502	0,00168
210'	0,600	0,00189
240'	0,675	0,00203
270'	0,690	0,00188
303'	0,720	0,00182
360'	0,750	0,00170
390'	0,765	0,00182
420'	0,840	0,00172
452'	0,825	0,00170
480'	0,850	0,00166
570'	0,900	0,00175
690'	0,930	0,00166
720'	0,930	—
810'	0,950	0,00161

1^{er} février 1905.

Diastase absolue 1 p. 20000^{cc}

Amidon 1 ‰.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
17'	0,27	0,00804
30	0,36	0,00645
42	0,42	0,00561
57	0,52	0,00559
78	0,61	0,00524
108	0,92	0,01016 (?)

Amidon 1 1/2 ‰.

17'	0,22	0,00635
33	0,30	0,00470
54	0,39	0,00411
76	0,52	0,00419
103	0,62	0,00418
138	0,82	0,00540

Amidon 2 ‰.

13'	0,13	0,00465
42	0,36	0,00369
63	0,39	0,00336
78	0,47	0,00355
106	0,58	0,00365
153	0,74	0,00382
202	0,91	0,00515

Amidon 2 1/2 ‰.

10'	0,13	0,00604
22	0,19	0,00416
64	0,30	0,00242
84	0,36	0,00242
111	0,46	0,00242
146	0,67	0,00251
192	0,73	0,00296
238	0,90	0,00420 (?)

Amidon 3 ‰.

12'	0,11	0,00454
19	0,14	0,00340
27	0,16	0,00258
40	0,18	0,00215
68	0,30	0,00227
102	0,36	0,00191
140	0,46	0,00191
204	0,64	0,00217
267	0,81	0,00270

17 février 1905.

Diastase absolue 1 p. 50000^{cc}

Amidon 1 ‰.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
25'	0,15	0,00280
60	0,24	0,00197
96	0,33	0,00190
143	0,47	0,00192
175	0,54	0,00192
223	0,65	0,00200
255	0,68	0,00194

Amidon 1 1/2 ‰.

35'	0,14	0,00188
68	0,22	0,00156
105	0,28	0,00136
150	0,38	0,00138
183	0,46	0,00146
230	0,54	0,00146

Amidon 2 ‰.

41'	0,13	0,00147
75	0,20	0,00130
110	0,25	0,00113
163	0,33	0,00105
195	0,41	0,00112
237	0,47	0,00116
267	0,60	0,00150

Amidon 2 1/2 ‰.

18'	0,10	0,00254
55	0,15	0,00128
90	0,20	0,00108
142	0,28	0,00101
171	0,31	0,00094
207	0,36	0,00096
250	0,43	0,00098

Amidon 3 ‰.

11'	0,075	0,00308
48	0,12	0,00116
82	0,16	0,00092
126	0,21	0,00081
166	0,26	0,00079
211	0,32	0,00079
245	0,37	0,00080

2 mars 1905.

Diastase absolue 1 p. 40000 ^{cc} .		
Amidon 1 %		
Durées.	$\frac{x}{a}$	k
18'	0,11	0,00337
54	0,26	0,00244
110	0,36	0,00176
170	0,51	0,00182
225	0,60	0,00177
292	0,71	0,00184
424	0,74	0,00140

Amidon 2 %.

15'	0,08	0,00241
75	0,17	0,00108
125	0,27	0,00108
185	0,35	0,00101
246	0,42	0,00100
303	0,53	0,00108
450	0,61	0,00091

Amidon 3 %

17'	0,104	0,00280
39	0,114	0,00135
54	0,13	0,00112
163	0,31	0,00100
207	0,37	0,00097
273	0,45	0,00095
382	0,58	0,00098
451	0,70	0,00116
540	0,85	0,00152

12 mars 1905.

Diastase absolue 1 p. 40000		
Amidon 3 %.		
Durées.	$\frac{a}{x}$	$k = \frac{1}{t} \text{Log} \frac{a}{a-x}$
12'	0,05	0,00185
33	0,08	0,00201
62	0,125	0,00100
90	0,16	0,00084
122	0,19	0,00075
142	0,26	0,00092
337	0,47	0,00082
430	0,58	0,00084
480	0,60	0,00082
540	0,69	0,00096

16 mars 1905.

Diastase absolue 1 p. 25000^{cc}.
Amidon 2 %.

15'	0,08	0,00241
30	0,14	0,00217
45	0,18	0,00191
60	0,22	0,00180
75	0,26	0,00174
90	0,31	0,00179
105	0,32	0,00160
120	0,35	0,00156
150	0,40	0,00141
180	0,44	0,00140
210	0,49	0,00140
240	0,52	0,00133
270	0,55	0,00128
300	0,66	0,00156
420	0,67	0,00114
450	0,67	—
480	0,68	0,00103

13 avril 1905.

Amidon 2 %.

Diastase absolue 1 p. 25000^{cc}.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$k = \log \frac{1}{t} \frac{a}{a-x}$
16'	0,11	0,00316
30	0,13	0,00201
46	0,18	0,00187
62	0,25	0,00200
75	0,32	0,00223
90	0,37	0,00215
210	0,67	0,00229
240	0,70	0,00223
270	0,81	0,00260
300	0,88	0,00306
345	0,90	0,00290
450	0,93	0,00281
480	0,96	0,00312
510	0,98	0,00332

Diastase absolue 1 p. 50000^{cc}.

16'	0,07	0,00200
30	0,09	0,00136
46	0,12	0,00145
166	0,29	0,00095
195	0,39	0,00110
225	0,42	0,00105
270	0,44	0,00097
300	0,49	0,00099
420	0,57	0,00090
450	0,62	0,00096
480	0,66	0,00097
510	0,69	0,00099
545	0,70	0,00096
570	0,72	0,00097

Diastase absolue 1 p. 75000^{cc}.

15'	0,05	0,00148
30	0,07	0,00105
45	0,09	0,00091
62	0,10	0,00074
180	0,24	0,00066
210	0,27	0,00065
240	0,29	0,00062
285	0,35	0,00064
315	0,38	0,00066
420	0,46	0,00064
495	0,48	0,00057
530	0,49	0,00055
560	0,50	0,00054

6 mai 1905.

Amidon 2 %.

Diastase absolue 1 p. 25000^{cc}.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$
15'	0,10	0,00305
30	0,15	0,00235
45	0,17	0,00180
60	0,22	0,00180
90	0,33	0,00193
120	0,38	0,00175
150	0,44	0,00174
271	0,64	0,00163
300	0,68	0,00165
331	0,70	0,00158
362	0,734	0,00159
392	0,80	0,00178
420	0,81	0,00178
450	0,815	0,00163
480	0,83	0,00160
540	0,86	0,00158
600	0,89	0,00159

12 mai 1905.

Amidon 1 %.

Diastase absolue 1 p. 25000^{cc}.

15'	0,31	0,01071
30	0,40	0,00739
45	0,52	0,00708
61	0,58	0,00617
90	0,70	0,00581
120	0,80	0,00582
155	0,83	0,00500
185	0,86	0,00461
212	0,87	0,00418
240	0,88	0,00383
270	—	—
300	0,92	0,00365
330	0,93	0,00350
360	0,94	0,00339
390	0,96	0,00358
420	0,987	0,00362

12 mai 1905 (suite).

Amidon 2 %.

Diastase absolue 1 p. 25000^{cc}.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$k = \frac{1}{t} \text{Log} \frac{a}{a-x}$	$\log \frac{a}{a-x}$
16'	0,12	0,00350	0,05552
32	0,19	0,00286	0,09151
60	0,31	0,00301	0,18046
92	0,47	0,00300	0,27572
120	0,55	0,00288	0,34679
210	0,73	0,00271	0,56864
241	0,78	0,00272	0,65718
270	0,80	0,00259	0,69897
300	0,81	0,00240	0,72125
390	0,88	0,00236	0,92082
420	0,92	0,00261	0,99691
450	0,95	0,00289	0,30102
480	0,98	--	--

3 juin 1905.

Amidon 2 %.

Diastase absolue 1 p. 25000^{cc}.

Durées.	$\frac{x}{a}$	$k = \frac{1}{t} \text{Log} \frac{a}{a-x}$	$\log \frac{a}{a-x}$
15'	0,117	0,00360	0,05404
32	0,187	0,00270	0,08459
46	0,268	0,00273	0,13549
60	0,315	0,00274	0,16431
90	0,396	0,00243	0,21896
105	0,417	0,00223	0,23433
240	0,655	0,00192	0,46218
300	0,712	0,00180	0,54061
370	0,765	0,00170	0,62893
420	0,79	0,00161	0,67778
483	0,814	0,00150	0,73049

14 juin.

Amidon 2 % + Diastase absolue

1 p. 25000^{cc}.Diastase absolue 1 p. 50000^{cc}.

15'	0,10	0,00305	0,04576
31	0,16	0,00244	0,07572
60	0,25	0,00208	0,12494
90	0,30	0,00172	0,15490
120	0,36	0,00161	0,19382
245	0,53	0,00156	0,32790
246	0,61	0,00166	0,40894
270	0,63	0,00160	0,43180
300	0,66	0,00156	0,46852
390	0,76	0,00161	0,62979
420	0,82	0,00177	0,74473
450	0,84	0,00177	0,79588
485	0,87	0,00176	0,85387

15'	0,11	0,00337	0,05061
30	0,19	0,00305	0,09151
48	0,268	0,00282	0,13549
63	0,345	0,00292	0,18376
90	0,405	0,00251	0,22548
120	0,478	0,00235	0,28233
244	0,717	0,00225	0,54975
270	0,76	0,00229	0,61979
310	0,783	0,00214	0,66354
330	0,81	0,00219	0,72125
390	0,84	0,00205	0,79588
460	0,88	0,00200	0,92082

16 juin.

Amidon 2 %.

Diastase absolue 1 p. 25000^{cc}.Diastase absolue 1 p. 75000^{cc}.

17'	0,08	0,00213	0,03621
45	0,13	0,00134	0,06048
65	0,16	0,00118	0,07572
90	0,21	0,00113	0,10237
122	0,26	0,00107	0,13077
180	0,35	0,00104	0,18709
210	0,39	0,00102	0,21467
241	0,41	0,00095	0,22915
270	--	--	--
390	0,46	0,00089	0,26761
330	0,48	0,00089	0,28400
360	0,51	0,00086	0,30900
420	0,56	0,00087	0,36765
450	0,60	0,00088	0,39794
480	0,63	0,00090	0,43180

18'	0,10	0,00254	0,04576
32	0,167	0,00253	0,08092
45	0,20	0,00215	0,09691
60	0,263	0,00220	0,13253
75	0,351	0,00250	0,18776
95	0,38	0,00218	0,20761
229	0,67	0,00223	0,48149
240	0,69	0,00212	0,50864
255	0,72	0,00216	0,55284
270	0,75	0,00222	0,60206
300	0,79	0,00226	0,67778
335	0,84	0,00237	0,79588
360	0,86	0,00237	0,85387
390	0,88	0,00236	0,92082
450	0,90	0,00222	1,00000

CHAPITRE IX — DISCUSSION DE LA LOI D'ACTION DE L'AMYLASE

Les faits expérimentaux qui viennent d'être rapportés nous montrent donc la loi d'action de l'amylase comme un phénomène complexe comportant deux parties distinctes qui se produisent avec une vitesse inégale.

Cette notion de complexité qui se dégage de nos expériences correspond bien d'ailleurs aux idées que se sont fait de la saccharification un grand nombre d'auteurs.

On sait que les deux théories les plus anciennes proposées pour expliquer la saccharification sont celles de Payen d'une part et de Musculus d'autre part. Elles ont été reprises et modifiées par un grand nombre d'auteurs et notamment par O'Sullivan, Brown et ses collaborateurs, Héron, Morriss, Millar.

« Pour quelques chimistes et Payen était du nombre, la molécule d'amidon devient une molécule de dextrine sans rien gagner ni perdre, par un changement de position des atomes constituants qui sont les mêmes, et en même nombre dans l'une et l'autre : c'est un simple phénomène d'*isomérisation*. C'est ensuite cette dextrine qui donne peu à peu du maltose en se combinant à une molécule d'eau.

« Pour Musculus et d'autres l'amidon ne peut se transformer en dextrine sans donner en même temps du maltose : c'est un dédoublement avec hydratation. Les deux phénomènes de production de dextrine et de maltose au lieu d'être successifs et indépendants sont simultanés et solidaires. La molécule d'amidon est composée d'un ensemble de feuillets qui s'isolent et se

détachent. Les uns sont des feuillets de dextrines, les autres deviennent du maltose en s'hydratant; c'est là la théorie de l'effeuillement, de la dislocation, de la molécule d'amidon; elle devient une *polymère* qui se *dépolymérise*.

« Disons tout de suite que ces deux théories rivales, en apparence opposées, traduisent toutes deux des faits expérimentaux. La première, celle de Payen, est d'accord avec ce qu'on observe pendant toute la durée de l'expérience. Il y a peu de maltose et beaucoup de dextrine au début de la réaction, moins de dextrine et plus de maltose à la fin, tout comme si le second corps dérivait directement du premier ¹. »

En revanche un des arguments les plus sérieux de la théorie de Musculus était la présence à la fin de la réaction d'une quantité notable de dextrine. « La dextrine, disait-il, n'est pas transformable en sucre par la diastase car il en reste toujours à la fin de la réaction qui s'obstine à ne pas disparaître quel que soit le temps qu'on lui donne pour cela ».

Ce raisonnement déjà qualifié de « caduc » par Duclaux l'est devenu bien plus depuis les dernières expériences de Maquenne et Roux et Wolff et A. Fernbach relatées plus haut, ces auteurs ayant obtenu la transformation totale de l'amidon en sucre avec des résidus de dextrine extrêmement minimes.

Après avoir exposé ces théories, Duclaux en propose une nouvelle qui paraît se rapprocher de celle de Payen.

« Il y a dans le malt deux diastases, une diastase *liquéfiante* ou *décoagulante*, l'*amylase*, qui est peut-être voisine de la cy-tase ou diastase dissolvante des parois cellulaires. Cette amylase transforme l'amidon gélatinisé en une substance soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool, passant à travers les filtres poreux et se distinguant en cela de l'amidon initial: c'est la dextrine. Mais les états intermédiaires entre l'amidon et la dextrine sont

¹ DUCLAUX, *Traité de microbiologie*, Tome II, p. 406.

nombreux parce que les divers amidons et les diverses parties d'un grain d'amidon résistent très inégalement à la liquéfaction. C'est sur ce mélange de dextrines inégalement résistantes et inégalement solubles dans l'alcool que s'exercera la diastase saccharifiante, la *dextrinase* qui les dédouble et en fait du maltose ¹. »

Cette conception de Duclaux s'appuie sur le fait que si l'on chauffe au-dessus de 60° jusque vers 66° à 68° l'extrait de malt, il perd de plus en plus son pouvoir saccharifiant pour se borner au rôle liquéfiant. Mais les études récentes sur les colloïdes en général et sur les sérums en particulier nous ont appris à nous méfier de ces distinctions basées uniquement sur la température. Il ne faut pas oublier que les diastases sont des colloïdes et que leur action peut être modifiée par une élévation de température ; mais on a alors un colloïde modifié dans son ensemble et non un colloïde détruit à côté d'un autre qui s'est conservé.

Quoiqu'il en soit, on voit que tous les auteurs admettent que la transformation de l'amidon en maltose comporte toute une série de stades intermédiaires qui apparaissent successivement d'après les uns, conjointement d'après les autres.

L'étude de la vitesse d'apparition du maltose à partir de l'amidon soluble nous a montré que cette vitesse est à peu près double au début de ce qu'elle est dans la partie moyenne de la réaction.

Il est extrêmement facile d'émettre des hypothèses qui expliquent ce phénomène. On pourrait admettre qu'on a, après quelques minutes d'action toute une série de corps en présence, amidon, dextrines, et déjà une petite quantité de maltose. Il est facile de supposer ensuite que ces différents corps apparaissent avec des vitesses différentes et se décomposent ou s'hydrolysent plus ou moins facilement, de telle sorte que la résultante totale se manifeste par une apparition rapide du maltose au début, puis de moins en moins rapide et enfin constante.

¹ DUCLAUX, *loc. cit.*, p. 245.

Mais toutes ces hypothèses sont absolument gratuites et ne s'appuient guère sur des faits vérifiables attendu qu'on n'a pas de moyen de doser d'une façon certaine les dextrines dans un milieu qui contient en même temps du maltose et encore de l'amidon.

Dans le but d'analyser avec plus de précision les causes qui pouvaient donner cette allure spéciale à la courbe de l'action de l'amylase il était tout indiqué de rechercher si cette particularité était due à la diastase ou à l'amidon.

Il y avait peut-être un moyen de s'en rendre compte, c'était d'arrêter une hydrolyse en cours par un moyen quelconque, puis d'ajouter à nouveau la solution de diastase et de continuer à suivre la réaction.

Le moment le plus propice paraissait être celui où d'après toutes mes expériences antérieures je savais que la *vitesse relative* de la réaction devenait constante. On pourrait voir alors si, ajoutant à ce moment une nouvelle quantité de diastase, la réaction repart avec la même vitesse qu'au début ou bien si elle se continue avec la vitesse du moment où elle a été interrompue.

Le seul moyen qui se présentait d'interrompre l'hydrolyse était de détruire rapidement la diastase par la chaleur. Une alcalinisation, qui aurait nécessairement été suivie d'une neutralisation par un acide aurait apporté des perturbations beaucoup plus grandes dans le phénomène que je voulais étudier. J'ai donc fait les expériences suivantes :

EXPÉRIENCES POUR LA DISCUSSION DE LA LOI D'ACTION
DE L'AMYLASE.

§ 1. — Interruption de la réaction au cours de l'hydrolyse.

Dans le but d'éviter autant que possible les causes d'erreurs qui pourraient s'introduire dans ces manipulations assez délicates j'ai opéré toujours sur deux solutions comparables. Pour cela, je faisais une solution d'amidon soluble à 2 % que je divisais en deux fractions égales, et je les additionnais d'une quantité égale de la même solution de diastase de façon que le titre en diastase soit de 1^g p. 25000^{cc}. Au bout d'un certain temps, 30 minutes dans l'expérience qui va être donnée ci-après, j'arrêtai l'action dans l'une des solutions en la portant rapidement à l'ébullition. Cette opération durait environ 30 secondes. Je refroidissais ensuite cette solution, la ramenaï au volume primitif et la remettais au thermostat jusqu'à ce qu'elle en prenne bien la température. Après 2^h environ je l'additionnais d'une nouvelle quantité de diastase de façon que le titre soit encore de 1^g p. 25000^{cc} et je suivais à nouveau l'hydrolyse.

Voici un exemple.

Pour la série I non interrompue je donne les durées, les valeurs de $\frac{x}{a}$ et $k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$.

Pour la série II interrompue 30' après le début de l'hydrolyse, la solution a bien entendu un certain pouvoir réducteur au moment où je commence à suivre la deuxième hydrolyse. Je désigne par $\frac{x_0}{a}$ la proportion de maltose à ce moment.

Les proportions de maltose qui se forment ensuite sont égales à $\frac{x}{a} - \frac{x_0}{a} = \frac{x_1}{a}$. La formule $k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x_1}$ est calculée en prenant les valeurs de $\frac{x_1}{a}$ dans cette série :

14 juin 1905.

Série I.

Amidon 2 0/0. Diastase absolue 1/25000.

Durée. $\frac{x}{a}$ $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$

15'	0,11	0,00337
30'	0,19	0,00305
48'	0,268	0,00282
63'	0,345	0,00292
90'	0,405	0,00251
120'	0,478	0,00235
244'	0,717	0,00225
270'	0,76	0,00229
310'	0,783	0,00214
330'	0,81	0,00219
390'	0,84	0,00205
460'	0,88	0,00200

Série II.

Amidon 2 0/0. Diastase absolue 1/25000.
Solution bouillie après 30' d'hydrolyse,
puis additionnée à nouveau de diastase.Durée $\frac{x}{a} - \frac{x_0}{a} = \frac{x_1}{a}$ $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x_1}$

$$\frac{x_0}{a} = 0,235$$

15'	0,026	—
30'	0,068	0,00135
45'	0,113	0,00115
60'	0,158	0,00119
180'	0,392	0,00120
210'	0,477	0,00134
242'	0,515	0,00129
270'	0,541	0,00122
330'	0,575	0,00112
390'	0,645	0,00115

Au moment où j'additionne pour la seconde fois la série II de diastase 0,235 du maltose total sont déjà formés, c'est-à-dire que d'après ce qui a été dit plus haut l'hydrolyse arrivait à la période qui peut se représenter par la loi logarithmique. L'arrêt brusque de la réaction, a-t-elle influencé la marche de l'hydrolyse? On voit que les valeurs de K restent bien constantes par conséquent la *vitesse relative* d'apparition du maltose est la même depuis le début de la deuxième hydrolyse jusqu'à la fin. Cette partie de la courbe qui est logarithmique dans la série de comparaison est aussi logarithmique et reste logarithmique dans la série II, malgré l'interruption de l'hydrolyse et l'addition d'une nouvelle quantité de diastase.

J'ai fait un assez grand nombre d'expériences semblables dans lesquelles j'interrompais la réaction après 15, 30, 45, 60, 90 minutes. Toujours j'obtenais le même résultat, la courbe reprenait après l'interruption avec la même allure qu'elle aurait eue si je ne l'avais pas interrompue — aux erreurs d'expérience près. — Par conséquent *la marche de l'hydrolyse de l'amidon par l'amylase du malt n'est pas modifiée si on interrompt cette hydrolyse par l'ébullition de la solution. Si on continue ensuite cette hydrolyse par l'addition d'une nouvelle quantité de diastase la loi de vitesse reprend exactement au point où l'hydrolyse a été interrompue.*

§ 2. — Ebullition des solutions d'amidon.

Il résulte des expériences précédentes que l'accélération qui se produit au début de l'hydrolyse n'est pas due à une activité spéciale de la diastase au commencement de son action.

J'ai voulu voir si elle ne tiendrait pas au mode de préparation de la solution d'amidon. Je versais par petites portions l'amidon dans l'eau fluorée à 0,5 p. 100 portée à l'ébullition, j'agitais vivement et je filtrais à chaud. Toute l'opération ne durait pas plus de 2 minutes.

Je voulus voir si cette ébullition quoique de courte durée ne préparait pas, en quelque sorte, la transformation rapide du début.

Je fis donc toute une série d'expériences dans le but de comparer l'hydrolyse des solutions préparées comme ci-dessus avec l'hydrolyse d'une fraction de la même solution mais refroidie puis rebouillie pendant un temps variant, suivant les expériences, de 15 secondes à 60 secondes.

Voici les résultats d'une expérience du 23 juin 1907.

Je donne les durées et les proportions de maltose hydrolysées $\frac{x}{a}$.

23 juin 1905.

Amidon 2% + diastase absolue 1/25000.
Solution faite pendant l'ébullition
de l'eau.

Amidon 2% + diastase absolue 1/25000.
Solution faite pendant l'ébullition refroidie,
puis rebouillie pendant 60 secondes.

Durées.	$\frac{x}{a}$	Durées.	$\frac{x}{a}$
30'	0,03	45'	0,04
22'	0,08	20'	0,08
40'	0,11	40'	0,111
62'	0,17	62'	0,16
80'	0,20	82'	0,20
100'	0,24	104'	0,23
120'	0,29	120'	0,25
150'	0,33	150'	0,31
185'	0,36		

La comparaison des valeurs de $\frac{x}{a}$ montre que ces deux hydrolyses marchent absolument avec la même vitesse et que, par conséquent, *la seconde ébullition subie par la série II n'a en rien modifié la vitesse d'hydrolyse.*

On aurait peut-être pu objecter à ces expériences que la seconde ébullition n'ajoutait rien à la première. Cela n'était pas évident à priori, mais pour trancher plus nettement la question j'ai fait d'autres séries d'expériences dans lesquelles la solubilisation de l'amidon avait lieu à une température bien inférieure à l'ébullition vers 70°. Sur une fraction de cette solution je suivais l'hydrolyse.

Une autre fraction était refroidie puis portée à l'ébullition pendant 15 à 30 secondes, puis refroidie. Ensuite j'en suivais l'hydrolyse comparativement avec la première.

Amidon 2 ‰. Solution non bouillie. Diastase absolue 1 p. 25000.		Amidon 2 ‰ Solution bouillie 30 secondes. Diast. absolue 1 p. 25000.	
Durées.	$\frac{x}{a}$	Durées.	$\frac{x}{a}$
20'	0,08	21'	0,08
45'	0,13	40'	0,13
60'	manqué	60'	0,20
80'	0,22	82'	0,22
102'	0,26	100'	0,28
335'	0,34	121'	0,32
—	—	220'	0,48

On voit que les valeurs de $\frac{x}{a}$ restent encore sensiblement les mêmes. *L'ébullition pendant 30 secondes ne modifie donc pas la vitesse d'hydrolyse de l'amidon.*

3° Enfin comme je mettais toujours les solutions au thermostat pendant un temps assez long, 12 à 15^h, pour qu'elles en prennent bien la température et aussi pour des raisons d'ordre matériel (je devais préparer les solutions le soir pour pouvoir commencer les expériences dès le lendemain matin et les suivre pendant 8, 10 et quelquefois 15^h consécutives), je me suis demandée si ce séjour de 12 à 15^h à 31°,5 ne produirait des modifications dans les solutions d'amidon, de nature à influencer les premiers stades de l'hydrolyse. J'ai donc suivi comparativement l'hydrolyse de deux solutions dont l'une était restée 18^h au thermostat et l'autre 2^h seulement.

Voici les résultats de l'expérience :

Amidon 2‰ + diast. absolue 1/25000. Solution placée au thermostat 18 ^h avant le début de l'hydrolyse.		Amidon 2‰ + diast. absolue 1/25000. Solution placée au thermostat 2 ^h avant le début de l'hydrolyse.	
Durées.	$\frac{x}{a}$	Durées.	$\frac{x}{a}$
1'	0,04	1'	0,04
20	0,09	20	0,09
40	0,13	40	0,13
60	0,19	60	0,19
80	0,24	80	0,21
104	0,28	102	0,24
120	0,34	120	0,30

On voit que les valeurs de $\frac{x}{a}$ sont les mêmes, *par conséquent le séjour de la solution d'amidon pendant 18^h dans un thermostat à 31°,5 ne modifie pas la vitesse d'hydrolyse de la solution.*

Conclusion. — 1° L'arrêt de la réaction au cours de l'hydrolyse.

2° L'ébullition de la solution pendant un temps variant de 15 à 60 secondes.

3° Le séjour dans un thermostat à 31°,5 pendant 12 à 15^h ne modifient pas la loi d'action de l'amylase sur l'amidon.

L'explication de l'aspect particulier de la courbe d'hydrolyse de l'amidon ne doit donc pas être recherchée dans des phénomènes de cet ordre mais bien plutôt dans un phénomène qui se produit dans les premiers temps de la réaction : c'est une précipitation.

PRÉCIPITATION DE LA SOLUTION D'AMIDON PAR L'ADDITION DE DIASTASE.

Lorsqu'à une solution d'amidon soluble à 2 0/0 bien filtrée, capable, je l'ai dit plus haut, de se conserver sans changement apparent pendant plusieurs jours, on ajoute une petite quantité d'amylase même à des concentrations très faibles, on voit se produire un précipité.

Ce précipité apparaît au bout d'un temps plus ou moins long suivant la quantité de diastase ajoutée, mais il était très net au bout d'une 1/2 heure dans mes expériences, lorsque la diastase agissait à la concentration de 1 p. 25000^{cc}. Il apparaît progressivement, devient de plus en plus volumineux et s'assemble au fond du vase.

Des expériences inédites de Victor Henri et Giaja montrent que :

1° La plus grande partie de l'amidon a été entraînée dans ce précipité, le liquide qui surnage n'en contient presque plus ;

2° L'amylose est en plus grande quantité dans le précipité que dans le liquide supérieur ;

3° L'addition de doses croissantes d'acides, en commençant par de très faibles, favorise d'abord, puis retarde et enfin empêche la formation du précipité.

Il y a donc une dose optimum pour laquelle la précipitation est maximale.

4° Par l'addition de petites quantités d'alcalis on empêche la formation du précipité.

D'autre part, Bierry, V. Henri, Schæffer, ont montré que si on ajoute à la solution d'amidon du suc pancréatique soigneusement dialysé on n'observe pas de précipité, et l'hydrolyse ne se produit pas.

Si on ajoute de petites quantités de NaCl ou d'autres électrolyses à la solution ferment + amidon il se forme un précipité, et l'hydrolyse a lieu.

Ces observations viennent d'être confirmées par Aggazzotti ¹. Cet auteur a suivi à l'ultramicroscope l'agglutination des granules d'amidon autour de ceux de la diastase Taka. Ce phénomène est déjà très visible au bout de 1 minute et continue à croître pendant 24^h.

Importance de ces faits. Il est bien évident que ces faits ont la plus grande importance ou point de vue de la loi d'action de l'amylose. En effet on assiste à la formation d'un composé d'adsorption et la notion de concentration devient très complexe, puisque la répartition n'est pas homogène dans toute la solution ni pour l'amidon, ni pour l'amylose.

D'une façon globale, l'observation directe comme l'étude ci-

¹ Alberto AGGAZZOTTI. *Osservazioni ultramicroscopiche sui processi fermentativi*, Zeitsch. f. allgemeine Physiol., Erstes Heft, 1907.

nétique de l'hydrolyse montre que l'action de l'amylase sur l'amidon comprend deux processus :

1° La formation d'un complexe colloïdal amidon + amylase, qui ne reste pas en suspension et donne lieu à un précipité.

2° Une dislocation chimique de la molécule d'amidon, dont le résultat est l'apparition de maltose.

Nous tiendrons le plus grand compte de ces faits dans la théorie de l'action des diastases que nous donnerons dans un chapitre ultérieur.

CHAPITRE X — COMPARAISON DE L'ACTION DE L'AMYLASE DU MALT ET DU SUC PANCRÉATIQUE SUR L'AMIDON ET LE GLYCOGÈNE

§ 1. — Action de l'amylase du malt.

Nous avons mentionné dans le chapitre précédent une différence entre l'amidon et le glycogène relativement aux concentrations en amylase du malt qui doivent être employées pour produire l'hydrolyse de ces substances. Nous devons maintenant revenir sur ce point et préciser la comparaison.

En étudiant comparativement l'hydrolyse de l'amidon et du glycogène par l'amylase du malt, on voit que l'hydrolyse de l'amidon est beaucoup plus rapide que celle du glycogène.

Cette comparaison peut être faite de deux façons différentes :

1° On peut suivre l'hydrolyse de solutions d'amidon et de glycogène également concentrées en diastase.

2° Chercher à produire des hydrolyses de vitesses à peu près égales en employant des concentrations différentes en diastase.

Nous avons employé ces deux méthodes.

Voici les résultats expérimentaux :

Amidon 2 ‰.		Glycogène 2 ‰.	
Diastase absolue 1 p. 1000.			
Temps.	Quantités de maltose.	Temps.	Quantités de maltose.
60'	1g,19	60'	0g,62
190'	1 ,28	190'	0 ,69
21h 1/2	1 ,45	21h 1/2	0 ,74
Diastase absolue 1 p. 10000.			
48'	0g,50	50'	0g,08
180'	1 ,04	180'	0 ,12
21h 1/4	1 ,21	21h 1/4	0 ,124
Diastase absolue 1 p. 25000.			
70'	0g,50	78'	0g,074
200'	1 ,04	200'	0 ,076
23h	1 ,21	23h	0 ,07

On voit nettement que des concentrations en diastase comme 1 p. 10000 et 1 p. 25000 qui produisent une hydrolyse rapide de l'amidon, n'ont qu'une action très faible sur le glycogène.

Si d'autre part nous cherchons à produire une hydrolyse plus avancée du glycogène nous voyons qu'il faut employer des concentrations beaucoup plus considérables.

Voici des exemples :

25 juillet.

Amidon 2 %.		Glycogène 2 %.	
Concentration en diastase.	Maltose après 24h.	Concentration en diastase.	Maltose après 30h.
$\frac{1}{1000000}$	0 ^g ,08	$\frac{1}{10000}$	0 ^g ,07
$\frac{1}{800000}$	0,12	$\frac{1}{5000}$	0,12
$\frac{1}{500000}$	0,20	$\frac{1}{4000}$	0,18
$\frac{1}{400000}$	0,28	$\frac{1}{2000}$	0,36
$\frac{1}{250000}$	0,40	$\frac{1}{1000}$	0,60
$\frac{1}{200000}$	0,50	$\frac{1}{800}$	0,86
$\frac{1}{100000}$	0,70	$\frac{1}{500}$	1,04
$\frac{1}{75000}$	0,84	$\frac{1}{400}$	—
$\frac{1}{50000}$	0,94	$\frac{1}{200}$	1,39
$\frac{1}{25000}$	1,00	$\frac{1}{100}$	1,54
$\frac{1}{12500}$	1,04	$\frac{1}{50}$	1,76

12 mai 1905.

Amidon 2 %.	
Diastase absolue 1/25000.	
Durée.	Quantité de maltose.
16'	0 ^g ,24
32	0 ,38
60	0 ,68
92	0 ,94
120	1 ,10
210	1 ,46
241	1 ,56
270	1 ,60
300	1 ,62

7 juillet 1905.

Glycogène 2 %.	
Diastase absolue 1/1000.	
Durée.	Quantité de maltose.
—	—
30'	0 ^g ,54
60	0 ,62
95	0 ,82
175	0 ,88
—	—
—	—
—	—
305	0 ,96

16 juin 1905.

Amidon 2 %.	
Diastase absolue 1/25000.	
Temps.	Quantité de maltose.
32'	0 ^g ,34
60	0 ,526
95	0 ,76
229	1 ,14
300	1 ,58

17 juillet 1905.

Glycogène 2 %.	
Diastase absolue 1/1300.	
Temps.	Quantité de maltose.
30'	0 ^g ,58
—	—
92	0 ,70
150	0 ,72
26 ^h	0 ,86

Tous ces exemples montrent que l'amylase du malt, extrêmement active lorsqu'elle agit sur l'amidon, ne produit qu'une hydrolyse lente et toujours incomplète du glycogène. Au point de vue quantitatif l'examen des chiffres précédents montre que si on cherche les concentrations en diastase qui produisent des hydrolyses de vitesses égales pour l'amidon et le glycogène, ces concentrations sont dans le rapport de 1 à 100 pour les concentrations faibles et de 1 à 20 pour les concentrations fortes.

§ 2. — Action du suc pancréatique.

Si nous comparons par les méthodes qui viennent d'être indiquées l'action du suc pancréatique sur l'amidon et sur le glycogène nous voyons *que l'hydrolyse de l'amidon se fait aussi plus vite que celle du glycogène mais la différence des deux vitesses est faible.*

Voici des exemples :

27 juillet 1905.

Amidon 2 ‰.		Glycogène 2 ‰.	
Suc pancréatique frais 4 ^{cc} ‰.			
Temps.	Quantité de maltose.	Temps.	Quantité de maltose.
60'	1 ^g ,40	60'	0 ^g ,84
90	1,48	90	0,90
22 ^h	1,60	22 ^h	1,17
Suc pancréatique frais 2 ^{cc} ‰.			
60'	1 ^g ,34	68'	0 ^g ,82
200	1,44	205	0,84
23 ^h	1,52	23 ^h	0,98
Suc pancréatique frais 1 ^{cc} ‰.			
85'	1 ^g ,10	90'	0 ^g ,79
210	1,28	215	0,82
23 ^h	1,33	23 ^h	1,00

7 juillet 1905.

Amidon 2 ‰.		Glycogène 2 ‰.	
Suc pancréatique frais 1/2 ^{cc} p. ‰.			
Temps.	Quantité de maltose.	Temps.	Quantité de maltose.
21'	0 ^g ,53	20'	0 ^g ,48
40	0,88	40	0,60
62	0,94	60	0,70
91	1,15	90	0,76
120	1,20	120	0,88
210	1,28	210	0,92
260	1,28	—	—
24 ^h	1,34	24 ^h	0,92

26 juillet 1905.

Amidon 2 %.		Glycogène 2 %.	
Teneur en diastase.	Quantité de maltose après 24h.	Teneur en diastase.	Quantité de maltose après 24h.
20 gouttes = 1 ^{cc}	1 ^g ,90	20 gouttes = 1 ^{cc}	1 ^g ,10
16 —	1,90	16 —	1,09
12 —	1,73	12 —	1,04
8 —	1,55	8 —	1,01
6 —	1,52	4 —	—
4 —	1,44	2 —	1,0
$\frac{11}{10}$ —	—	$\frac{9}{10}$ —	0,81
$\frac{8}{10}$ —	1,02	$\frac{8}{10}$ —	0,80
$\frac{4}{10}$ —	0,96	$\frac{6}{10}$ —	0,77
		$\frac{4}{10}$ —	0,72
		$\frac{2}{10}$ —	0,66

Nous voyons que l'hydrolyse du glycogène par le suc pancréatique est moins rapide que celle de l'amidon, ces vitesses sont entre elles sensiblement dans le rapport de 1 à 2 la concentration en diastase restant la même.

Lorsqu'on produit l'hydrolyse du glycogène et de l'amidon par l'amylase du malt nous avons vu précédemment que le rapport des concentrations pour obtenir une vitesse égale passe de 1 à 20 pour les concentrations fortes et de 1 à 100 pour les concentrations faibles.

Le suc pancréatique agit donc plus fortement sur le glycogène que l'amylase du malt. Ce résultat est intéressant puisqu'il démontre l'existence d'une adaptation de l'amylase animale vis-à-vis du glycogène, produit qu'elle hydrolyse habituellement, tandis que l'amylase végétale du malt ne rencontrant jamais de glycogène au cours de la vie de la plante n'est pas adaptée à l'hydrolyser. Nous semblons donc retrouver dans les amylases elles-mêmes une sorte de spécificité.

Discussion. Un point doit être discuté relativement à ces expériences qui ont été faites à une époque où l'on ne connaissait pas encore le rôle important que jouent les sels sur l'action de l'amylase du suc pancréatique. Bierry, Giaja et Victor Henri ayant montré que le suc pancréatique dialysé est absolument inactif vis-à-vis de l'amidon et du glycogène, la question se pose de savoir si les doses de sels qui se trouvaient dans les solutions étaient les quantités optima; car j'employais le suc pancréatique pur, tel qu'il s'écoule de la fistule temporaire après injection de sécrétine. Il est aussi possible que l'optimum de concentration en sels soit différent pour l'amidon et pour le glycogène. Il y a donc lieu de reprendre systématiquement cette étude en tenant compte également des notions apportées récemment par Maquenne et Roux sur l'alcalinité la plus favorable à la saccharification.

!

CHAPITRE XI -- DISCUSSION GÉNÉRALE SUR LES LOIS D'ACTION DES DIASTASES

RÉSULTATS DES ÉTUDES SUR L'AMYLASE ET LA MALTASE.

§ 1. — Influence de la concentration en substance à transformer.

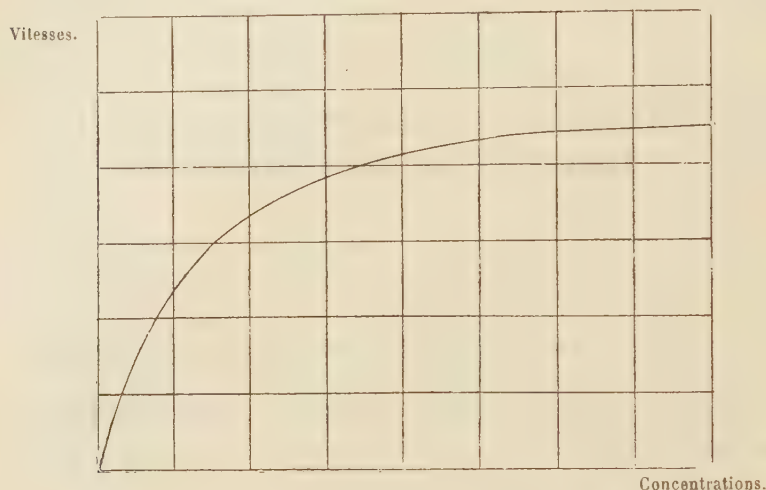
Amidon. Lorsqu'on étudie la vitesse de saccharification de l'amidon par la « diastase absolue » (amylase du malt) on voit que pour des solutions de *concentrations croissantes* (de 0,5 à 2,5 ‰) la vitesse d'hydrolyse *croît* avec la concentration; à partir de 2,5 ‰, cette vitesse devient indépendante de la concentration.

L'étude de l'influence de la concentration en amidon sur l'hydrolyse par la diastase Taka (diast. de levures) donne un résultat semblable.

Glycogène. La vitesse d'hydrolyse du glycogène par l'amylase du malt augmente avec la concentration (concentration de 1 à 5 ‰). Il est probable qu'en opérant sur des concentrations plus fortes en glycogène on retrouverait le même phénomène que pour l'amidon, c'est-à-dire la limite à partir de laquelle la quantité de glycogène hydrolysée est indépendante de la concentration.

Maltose. La vitesse d'hydrolyse des solutions de faible concentration augmente avec la concentration en maltose (E.-F. Terroine), puis elle devient indépendante pour les solutions de concentrations comprises entre 2 et 8 ‰.

D'une façon générale la relation entre les concentrations en amidon, glycogène, maltose et les vitesses d'hydrolyse peut se traduire par une courbe de la forme suivante



*Relation entre la concentration du corps à transformer
et la vitesse d'hydrolyse.*

qui peut s'exprimer mathématiquement par la formule

$$\text{Vitesse initiale} = K a \frac{1}{1 + m a}$$

§ 2. — Influence de la concentration en diastase sur la vitesse initiale de l'hydrolyse.

α. De l'amidon.

La vitesse d'hydrolyse de l'amidon n'est pas proportionnelle à la quantité de diastase. La relation qui relie la concentration en diastase c à la quantité x de maltose formée est de la forme

$$\frac{x}{c} = B - A c \quad \text{ou} \quad x = B c - A c^2$$

dans lesquelles B et A sont deux constantes déterminées par l'expérience.

Quand c est petit le terme $A c^2$ est négligeable et la quantité

x est directement proportionnelle à c . Quand c augmente le terme Ac^2 intervient comme un correctif de plus en plus grand et la quantité x croît de moins en moins vite, donc la quantité de maltose formée n'est plus proportionnelle à la concentration.

β . *Glycogène*. Dans le cas de l'hydrolyse du glycogène on obtient des résultats de même sens.

§ 3. — Influence sur la quantité de substance hydrolysable.

α . *Amidon*. 1° Pour une concentration de 1^g p. 25000^{cc} en amylase du malt on arrive en 8 ou 9^h à une saccharification pratiquement complète d'une solution à 2 ‰.

2° Pour des concentrations très faibles en amylase 1 p. 1000000^{cc} à 1 p. 250000^{cc} l'hydrolyse de l'amidon est lente mais ne paraît pas subir d'arrêt.

β . *Glycogène*. 1° Quand l'amylase du malt agit sur le glycogène il faut employer des doses massives de diastase (1^g p. 50^{cc}), pour avoir une hydrolyse pratiquement complète en 26^h d'une solution à 2 ‰.

2° Pour les concentrations moins élevées, à partir de 1^g p. ‰ la réaction subit un arrêt.

3° La quantité de glycogène hydrolysable dépend de la concentration en diastase.

Pour les concentrations comprises entre 1 p. 10000^{cc} et 1 p. 800^{cc} les quantités de maltose formées sont proportionnelles aux concentrations en diastase. Au-dessus de 1^g p. 800 la même proportionnalité ne se retrouve pas.

4° L'arrêt de l'hydrolyse ne peut être attribué à la destruction ou à l'affaiblissement de la diastase car elle conserve sensiblement la même activité après 26^h d'action si on la met en présence d'une nouvelle quantité de glycogène ou d'amidon.

5° Le glycogène non transformé en maltose n'est plus à l'état de glycogène dans la solution qui ne se colore plus en brun par l'iode mais précipite encore par l'alcool.

§ 4. — Constance du ferment.

1° *Maltase*. La preuve de la constance de la maltase a été donnée par deux méthodes différentes. Ces deux méthodes ont montré que la diastase Taka agissant 24^h et même 38^h à 39° sur du maltose ne se trouve pas du tout affaiblie. On a donc le droit de considérer que dans une hydrolyse de maltose pendant 24^h au moins la marche de la réaction exprime bien la loi d'action de la diastase sans que d'autres actions secondaires (transformations permanentes) se produisent.

2° *Amylase*. Les expériences ont montré que l'amylase de la « diastase absolue » restée pendant 26^h en présence du glycogène est encore capable d'hydrolyser une nouvelle quantité de glycogène ou d'amidon avec une vitesse sensiblement égale à celle de la première hydrolyse. L'activité du ferment n'avait donc pas varié.

§ 5. — Loi d'action.

a) *Maltase*. — 1° L'examen des valeurs de $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ montre que ces valeurs augmentent à mesure que la réaction avance, cette réaction est donc plus rapide que ne l'indique la loi logarithmique.

2° Les valeurs de $2K_1 = \frac{1}{t} \log \frac{a+x}{a-x}$ restent à peu près constantes pour une série donnée mais varient avec la concentration en maltose.

3° Dans les cas d'addition de glucose au début de la réaction, les valeurs de $2K_1 = \frac{1}{t} \left(\log \frac{a+2g+x}{a-x} + \log \frac{a+2g}{a} \right)$ dans laquelle on tient compte de l'addition du glucose augmentent; au contraire les valeurs de $2K_1 = \frac{1}{t} \log \frac{a+x}{a-x}$ calculées comme s'il n'y avait pas de glucose restent sensiblement constantes.

Ce résultat peut être attribué au fait que le glucose retarde faiblement la réaction.

4° Les valeurs de $K_2 = \frac{a}{t} \left(\frac{2x}{a} + \ln \frac{a}{a-x} \right)$ restent à peu près constantes.

a) Dans chacune des séries.

b) Quand on fait varier la concentration en maltose.

La formule de Bodenstein paraît donc bien s'appliquer à l'action de la maltase pour les solutions de concentrations moyennes (2 à 8 %) en maltose.

b) *Amylase*. — 1° L'hydrolyse de l'amidon soluble par la diastase absolue ou l'amylase de la diastase Taka se produit suivant une loi complexe.

Au début la *vitesse relative* de l'hydrolyse va en décroissant jusqu'à la transformation d'environ 25 à 30 % d'amidon ; à partir de ce moment la vitesse relative reste constante jusqu'à la transformation de 90 et même 94 % d'amidon.

2° Cette allure de la courbe d'hydrolyse ne peut être attribuée à une modification de la diastase, car si on arrête une hydrolyse puis qu'on la fasse reprendre par l'addition d'une nouvelle quantité de diastase la première période de l'hydrolyse ne se reproduit pas avec les mêmes caractères.

3° Elle ne peut être attribuée au mode de préparation de la solution d'amidon car en variant ce mode on obtient des résultats identiques.

COMPARAISON AVEC LES RÉSULTATS OBTENUS DANS L'ÉTUDE D'AUTRES FERMENTS.

Il est intéressant de rapprocher ces résultats de ceux qui ont été obtenus sur d'autres ferments et en particulier sur l'invertine, l'émulsine, la lactase, etc.

LOI D'ACTION. INFLUENCE DE LA CONCENTRATION
EN SUBSTANCE A TRANSFORMER¹.

Invertine. L'invertine a été étudiée par un assez grand nombre d'auteurs; d'abord par O'Sullivan et Thompson, puis Tamman, V. Henri, Euler, Herzog, Barendrecht, Visser.

L'ensemble de ces recherches montre que la loi d'action de ce ferment peut être représentée par la formule empirique $2K_1 = \frac{1}{t} \log \frac{a+x}{a-x}$ ou mieux par la formule

$$K_3 = \frac{10 \cdot a}{t} \left(2 \frac{x}{a} + \ln \frac{a}{a-x} \right) + \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}$$

qui donne des valeurs de K_3 constantes.

1° Pendant toute la durée de l'hydrolyse.

2° Quelle que soit la concentration initiale en saccharose.

3° Si on ajoute au début une certaine quantité de sucre interverti.

Les recherches de V. Henri ont montré que l'influence de la concentration initiale en saccharose peut être représentée par l'expression

$$\text{Vitesse initiale} = Ka \frac{1}{1 + ma}.$$

Emulsine. L'émulsine a été étudiée par Tammann, Armstrong, Victor Henri, Herzog, etc.

La loi théorique établie pour l'invertine explique d'une manière satisfaisante les résultats expérimentaux obtenus avec l'émulsine.

La relation entre la concentration en salicine et la vitesse d'hydrolyse est la même que dans le cas de l'inversion du saccharose par l'invertine.

¹ Pour la bibliographie de ce paragraphe consulter le travail de Euler, Zeits. f. phys. Chem. 1905.

Lactase. La lactase a été étudiée par Armstrong. Il trouve que les valeurs de $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ augmentent. La vitesse d'hydrolyse est donc plus rapide que la loi logarithmique.

Lipase et Butyrase. Les recherches de Kastle et de Stade, ont montré que le dédoublement des graisses, et de l'acide butyrique se fait aussi plus vite que ne l'indique la loi logarithmique.

Zymase. Aberson, Herzog, Euler trouvent que la fermentation alcoolique du glucose par la zymase se produit suivant la même loi empirique que l'hydrolyse du saccharose. De même la vitesse d'hydrolyse ne varie pas proportionnellement à la concentration au glucose. Ce résultat apparaît clairement par l'examen des chiffres de Euler sur la zymase.

Catalase. — La vitesse de décomposition de l'eau oxygénée par la catalase a été étudiée par Scuter, Euler, Isajew, Bach, Schodat. Tous ces auteurs trouvent que la loi d'action de la catalase correspond bien à la formule

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}.$$

De plus la vitesse de la réaction semble proportionnelle à la concentration en eau oxygénée. Ce résultat ressort surtout des travaux de Scuter et de Bach, mais il faut remarquer qu'il a été obtenu en opérant sur des concentrations excessivement faibles en eau oxygénée, bien au-dessous de 0,1 normal. Lorsque Euler et Bach ont opéré sur des concentrations plus fortes ils n'ont plus trouvé la même proportionnalité.

Pour les autres ferments les vitesses de réactions ont été très mal étudiées jusqu'ici, à cause de la difficulté qu'on éprouve à faire des mesures quantitatives.

Trypsine. Un essai a été fait pour étudier la digestion tryptique de la gélatine en suivant les variations de la conductivité électrique. Cette application de la méthode électrique imaginée par V. Henri et Larguiers de Bancel a été depuis reprise par Bayliss.

Le résultat général d'après la variation de la conductivité électrique de la solution c'est que :

1° Le phénomène suit la loi logarithmique ;

2° La relation entre la vitesse d'hydrolyse et la concentration en gélatine est la même que celle qui a été trouvée pour l'invertine, l'émulsine, le maltose, etc.

Digestion de l'albumine coagulée. Les autres réactions produites par les ferments protéolytiques ont toujours été étudiées par la méthode des cubes d'albumine ou des tubes de Mette plongés dans la solution de ferment. Le corps à transformer ne se trouve donc pas réparti d'une façon homogène, tant s'en faut, et il n'est attaqué que sur une surface limitée. La vitesse de la réaction ne peut pas être comparée dans ces conditions à celle qui est obtenue avec les autres méthodes. D'un autre côté, comme le ferment pénètre peu à peu la substance à transformer il est très difficile de savoir sur quelle surface agit ce ferment, on perd donc encore par là un élément d'analyse. Il est certain que la grandeur de la surface de contact entre l'albumine cuite et la solution de ferment joue un rôle considérable comme l'ont montré V. Henri et Gompel. Ils ont enfilé de petites tranches minces d'albumine cuite sur un fil et comparé leur vitesse de digestion avec celle de cubes de volume total égal ; ils ont vu ainsi que à volume égal la digestion des tranches est toujours plus rapide que celle des cubes, ceux-ci ne sont digérés qu'aux trois quarts, quand les premières le sont complètement.

La notion de surface est donc essentielle pour juger de l'action d'un ferment protéolytique.

Fibrin-ferment — Lab-ferment. Enfin R. Fuld et Spiro ont étudié le premier l'action du fibrin-ferment sur le fibrinogène, le second l'action du lab sur le lait. Ici encore l'étude de la vitesse de coagulation est très difficile à faire méthodiquement. Ces auteurs ont essayé d'appliquer la mesure de la viscosité. Ils ont

surtout étudié l'influence de la concentration en fibrin-ferment et en lab-ferment. Nous allons voir immédiatement leurs résultats.

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN FERMENT.

Les travaux des auteurs précédemment cités ont montré que pour l'invertine, l'émulsine, la lipase, la zymase (d'Aberdson), la catalase et le lab-ferment *la vitesse de la réaction est proportionnelle à la quantité de ferment.*

Pour les ferments protéolytiques, pepsine, typsine, fibrin-ferment, *la vitesse est proportionnelle à la racine carrée de la concentration de ferment*, c'est-à-dire que si ces concentrations sont entre elles comme 1, 4, 9, 16, les vitesses sont entre elles comme 1, 2, 3, 4. Cette loi est connue sous le nom de règle de Schutz.

Pour la zymase d'après Euler et Hertzog, pour la levure de bière fraîche, pour l'oxydase d'après Medwedew qui a étudié l'oxydation de l'acide salicylique, *la vitesse de la réaction est proportionnelle au carré de la concentration en ferment.*

CONSTANCE DU FERMENT.

Un point important consiste à rechercher si le ferment conserve bien la même activité pendant toute la durée de la réaction. Ce point a été étudié avec soin dans mon travail sur la maltase.

La technique à suivre a été établie par Victor Henri et il a montré que l'invertine et l'émulsine sur lesquelles il agissait étaient bien constantes.

Pour la catalase, la question a été étudiée avec beaucoup de soin et de précision par Scuter. Il a montré qu'à la température du laboratoire (25° environ) le ferment perd son activité à me-

sure qu'il agit. Il admet que le ferment est oxydé par l'oxygène qui se forme. Au contraire, à la température de 0° le ferment ne s'altère pas, il reste bien comparable à lui-même.

Pour les ferments tels que le lab et fibrin-ferment qui agissent sur des colloïdes et qui en produisent la coagulation, Spiro a montré qu'il y avait fixation du ferment par le coagulum et par conséquent la réaction se ralentit de plus en plus.

Cet aperçu des travaux sur la loi d'action des diastases met bien en évidence un résultat qui apparaît comme général, c'est la relation entre la vitesse d'hydrolyse et la concentration en substance à transformer. Quand on opère dans des limites assez étendues on voit que toujours cette relation est de la forme

$$\text{Vitesse initiale} = Ka \frac{1}{1 + ma}$$

dans lesquelles k et m sont deux constantes caractéristiques de la diastase étudiée.

THÉORIES PROPOSÉES POUR EXPLIQUER L'ACTION DES DIASTASES.

Le nombre des recherches sur les diastases est très grand, mais il n'y a qu'un nombre relativement restreint d'auteurs qui se soient occupés d'étudier systématiquement les lois générales de l'action des diastases.

Les premiers qui dirigèrent leurs recherches dans ce sens furent Tamman, puis O'Sullivan et Thompson¹; ces derniers publièrent en 1890 un travail sur l'invertine.

Ces auteurs ayant vu que la courbe d'hydrolyse du saccharose par l'invertine présente des analogies avec l'hydrolyse par les acides en concluent que ces deux phénomènes suivent également

¹ O'SULLIVAN et THOMPSON, *Invertase*, Journ. of Chem. Soc., 1890, t. LVII, p. 834, 930.

la loi logarithmique des réactions monomoléculaires. Il y aurait identité des lois d'action des acides et de l'invertine agissant sur le saccharose.

En réalité voyant la ressemblance des courbes des deux réactions ces auteurs n'avaient pas calculé les valeurs de

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}.$$

Victor Henri a montré que si l'on fait les calculs d'après leurs expériences les valeurs de K ne sont pas constantes. Une erreur beaucoup plus considérable faite par ces auteurs vient de ce qu'ils n'avaient pas étudié l'influence de la concentration en saccharose.

Cette étude leur aurait révélé immédiatement une différence profonde entre les diastases et les acides.

L'erreur commise par O'Sullivan et Thompson a été nettement mise en évidence par Duclaux.

En 1878 Barth et en 1883 Duclaux avaient vu que si l'on mettait la même quantité d'invertine en présence de doses croissantes de saccharose, les quantités de saccharose interverties au bout du même intervalle de temps ne variaient pas du tout proportionnellement à la concentration en sucre, comme cela se passe pour l'action des acides; au contraire, pour des concentrations comprises entre 10 et 40 % on trouve que la quantité de sucre intervertie au bout d'un certain temps est la même quelle que soit la concentration du sucre.

Duclaux fait remarquer d'ailleurs que cette même propriété se retrouve pour d'autres diastases, par exemple pour l'amylase de l'urine étudiée par Dubourg.

Un second point sur lequel insiste Duclaux c'est le résultat observé par beaucoup d'auteurs qu'au début d'une réaction diastatique la vitesse est uniforme, la quantité de substance transformée est proportionnelle au temps; la courbe représentative est

une ligne droite jusqu'à la transformation d'environ 20 % de la totalité du corps dans la solution.

Enfin Duclaux insiste sur l'influence retardatrice des produits de la réaction. En se fondant sur cet ensemble de faits, il émet une théorie générale d'une grande importance sur les lois d'action des diastases. Il est amené à représenter la loi d'action des diastases par la formule

$$K = \frac{a}{t} \ln \frac{a}{a - x}$$

qui exprime d'une part que la vitesse de la réaction est logarithmique, et d'autre part que la *quantité absolue* de substance transformée est indépendante de la concentration initiale de ce corps; ce qui est conforme aux résultats trouvés par Barth, Duclaux et Dubourg.

Enfin les conceptions théoriques de Duclaux l'amènent à penser que l'action de la diastase sur le corps à transformer, son action sur les produits de la réaction sont deux phénomènes suivant des lois distinctes, essentiellement différentes des lois de la chimie générale. Les diastases sont donc envisagées par lui comme suivant des lois *sui generis*, constituant une classe à part de phénomènes.

On peut critiquer deux points essentiels dans cette théorie.

1° Elle suppose que la vitesse de toutes les réactions diastatiques est logarithmique, ceci n'est pas exact, comme nous venons de le voir par l'exposé succinct des travaux des auteurs.

L'invertine agissant sur le saccharose, l'émulsine sur la salicine, la maltase sur le maltose, la zymase sur le glucose, la lactase sur le lactose, la lipase sur les graisses, le butyrase sur l'acide butyrique donnent des réactions plus rapides que ne l'indique la loi logarithmique. L'amylase suit une loi complexe.

Somme toute parmi les diastases étudiées jusqu'ici il ne reste guère que la catalase agissant sur l'eau oxygénée dont la loi d'action soit logarithmique.

En second lieu la théorie proposée par Duclaux ne rend pas compte du phénomène qui se passe si au lieu d'opérer sur des solutions de concentrations relativement élevées on s'adresse à des concentrations plus faibles; on sait alors que la quantité de substance transformée augmente avec la concentration, ce n'est qu'à partir d'une certaine limite que la quantité de substance transformée devient indépendante de la concentration.

Enfin Duclaux admet et beaucoup d'autres auteurs avec lui qu'il se produit une combinaison entre la diastase et le corps à transformer d'une part et une autre combinaison entre cette diastase et les produits de la réaction. Cette dernière combinaison exercerait une influence retardatrice sur la première et Duclaux suppose *a priori* que cette action retardatrice est proportionnelle à $\frac{x}{a}$.

On aurait ainsi une réaction qui serait le résultat de combinaisons partielles suivies de décompositions plus ou moins rapides produisant ainsi une réaction à un ou plusieurs stades.

Cette conception fut reprise par T. Brown et Glendinning¹ qui essayèrent d'établir une théorie générale, mais leurs hypothèses ne peuvent amener à une représentation complète de la marche de la réaction diastasique. Ces auteurs prétendent en particulier que pour les concentrations faibles les produits de la réaction n'ont pas d'influence notable. Cette hypothèse est contraire à tout un ensemble de faits expérimentaux publiés par Victor Henri et par moi.

Victor Henri se basant sur ses recherches sur l'invertine et l'émulsine exposa une théorie basée sur la formation de combinaisons intermédiaires entre la diastase et le saccharose ainsi qu'entre la diastase et le sucre interverti. Par tout un ensemble de considérations basées sur l'expérience, Victor Henri est

¹ BROWN et GLENDINNING, *loc. cit.*

amené en 1902 à représenter l'action de l'invertine sur le saccharose par la loi

$$\frac{dx}{dt} = \frac{K_3(a-x)}{1 + m(a-x) + nx},$$

où K_3 est une constante proportionnelle à la quantité de ferment, m et n deux constantes caractéristiques qui pourront varier avec le milieu, la température, mais qui, une fois déterminées devront donner pour K_3 la même valeur, quelle que soit la concentration en saccharose ou en sucre interverti.

Si l'on considère le cas d'une hydrolyse au début, il n'y a pas encore de sucre interverti, x est donc égal à 0. La formule précédente devient

$$\text{Vitesse initiale} = \frac{K_3 a}{1 + ma}.$$

Si la concentration est faible, c'est-à-dire si a est petit, ma disparaît en face de l'unité, et alors la vitesse initiale est proportionnelle à la concentration en saccharose. A mesure que a augmente, la vitesse croît d'abord rapidement, puis lentement, de sorte que ma sera grand par rapport à l'unité, la vitesse initiale sera égale environ à $\frac{K_3 \cdot a}{ma}$ c'est-à-dire à $\frac{K_3}{m}$ elle sera constante quelle que soit la concentration en saccharose. Graphiquement la relation entre la concentration et la vitesse initiale est une hyperbole passant par l'origine et ayant une asymptote parallèle à l'axe des X à une distance égale à K_3 . C'est bien la forme générale que l'on obtient expérimentalement ainsi que nous l'avons vu plus haut.

En calculant la formule qui donne la valeur de K_3 Victor Henri arrive à l'expression

$$K_3 = \frac{a}{t} \left[(m-n) \frac{x}{a} + n \ln \frac{a}{a-x} \right] + \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}.$$

En cherchant par tâtonnements on peut poser $m = 30$ et $n = 10$ et on obtient pour K_3

$$K_3 = \frac{10 \cdot a}{t} \left[2 \frac{x}{a} + \ln \frac{a}{a-x} \right] + \frac{1}{t} \ln \frac{a}{a-x}.$$

Le calcul de ces valeurs de K_3 donne à l'auteur des valeurs bien constantes.

- 1° pendant toute la durée de l'hydrolyse ;
- 2° si l'on fait varier la concentration en saccharose ;
- 3° si l'on ajoute une certaine quantité de sucre interverti.

On peut donc considérer que la loi d'action de l'invertine et aussi de l'émulsine est bien représentée mathématiquement par la loi

$$\frac{dx}{dt} = \frac{K_3(a-x)}{1 + m(a-x) + nx}.$$

Mais tout un ensemble d'études poursuivies depuis quelques années sur les colloïdes ont amené V. Henri à penser que l'hypothèse des combinaisons intermédiaires entre la diastase et le corps sur lequel elle agit doit être complètement remaniée, à cause des connaissances nouvellement acquises. Je tâcherai donc d'exposer rapidement l'état actuel des théories récentes relatives aux diastases, mais je dois parler d'abord d'un essai de Arthus publié ces dernières années.

Théorie de Arthus. Pour Arthus, il n'y a pas de diastases, il n'y a que des actions diastasiques. Il assimile les propriétés diastasiques aux propriétés physiques, telles que la lumière, l'électricité, le magnétisme. Il émet en un mot une théorie qu'on peut appeler la théorie physique des diastases.

Cette idée a été reprise par Barendrecht qui l'a traduite mathématiquement. Cet auteur arrive à la même expression que Bodenstein.

Toutes ces théories sont sujettes à des critiques dont la principale vient de ce que dans aucune on ne tient compte du fait que la *diastase est un colloïde*. On suppose toujours que la réac-

tion se produit en milieu *homogène* tandis qu'en réalité par le fait de l'introduction de la diastase dans la solution du corps à transformer on en fait un milieu *micro-hétérogène* d'après la nouvelle nomenclature proposée par Bredig.

Il était donc important de reprendre ces théories en se plaçant spécialement à ce point du vue, qui je le répète est nouveau de la science, et en considérant par conséquent toute action diastatique comme une action catalytique, spécifique, se produisant en milieu micro-hétérogène.

Les premières études sur les réactions en milieu hétérogène furent faites par Bredig et ses élèves; elles portèrent sur l'action des métaux colloïdaux et en particulier du platine colloïdal sur l'eau oxygénée. En étudiant la loi de ces réactions catalytiques spéciales, se produisant en milieu micro-hétérogène. Bredig montra qu'elles se rapprochent des réactions diastasiques par tout un ensemble de propriétés.

Nernst développant la théorie des réactions en milieu hétérogène expose une théorie générale dans laquelle il montre que l'on doit distinguer deux processus principaux dans les réactions de cet ordre :

1° la vitesse de diffusion du corps à transformer vers la surface de séparation du catalysateur ;

2° la vitesse de la transformation chimique qui se produit à cet endroit.

Nernst admet que dans beaucoup de réactions le second processus est très rapide, de sorte que la courbe de vitesse de la réaction totale se ramène à une vitesse de diffusion, grandeur mesurable, qui se traduit par une courbe logarithmique de la forme $K = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$ où la constante K est égale à $\frac{S \cdot D}{\delta}$.

D étant le coefficient de diffusion, S la grandeur de la surface sur laquelle se produit la réaction, et δ l'épaisseur de la couche de diffusion, dans laquelle la concentration est variable.

Cette théorie est admise par Herzog¹, qui cherche à l'appliquer directement à l'action des diastases.

L'hypothèse admise par Nernst² que le processus chimique se produit avec une vitesse tellement grande que la réaction est pour ainsi dire instantanée conduit Hertzog à considérer la vitesse de diffusion du sucre comme beaucoup plus faible qu'elle ne l'est en réalité, et l'amène à des résultats inconciliables avec l'expérience ainsi que l'a montré V. Henri³. Ce dernier auteur a fait la critique de l'application directe de la théorie de Nernst aux actions diastasiques. Il a mis en évidence plusieurs facteurs qui peuvent intervenir dans les réactions diastasiques et parmi tous ces facteurs l'un des plus importants est l'*adsorption*, c'est-à-dire la formation d'un composé d'une nature spéciale entre les granules colloïdaux de la diastase et le corps à transformer.

Un fait remarquable à ce sujet c'est que la courbe d'adsorption d'un cristalloïde par un colloïde, ainsi que la courbe d'adsorption de deux colloïdes l'un par l'autre est la même que celle qui relie la vitesse initiale d'une réaction diastasique avec la concentration du corps à transformer.

Il en résulte que dans un milieu contenant un certain nombre de granules diastasiques si on augmente la quantité du corps à transformer, la proportion de ce corps qui sera transformée n'augmentera pas proportionnellement à la quantité *mise* dans la solution, mais à la quantité *adsorbée* par les granules. La loi du phénomène sera donc la loi de l'adsorption.

D'après Victor Henri les réactions diastasiques se produisent suivant une loi bien différente de celle qui est proposée dans la théorie de Nernst.

¹ HERZOG, Zeitsch. für physiol. Chemie XLI, B. 41, 1904. S. 416.

² NERNST und BRUNNER, Zeit. schf. phys. Chem. B. 47. 1904. S. 52.

³ V. HENRI, Archivio di Fisiologia. Nov. 1904.

Dans le cas des réactions en milieu colloïdal, la vitesse de la réaction dépendrait surtout de deux facteurs essentiels.

1° La vitesse de la formation du composé d'adsorption.

2° La vitesse de la réaction chimique.

La vitesse de diffusion semble avoir beaucoup moins d'importance que ne le pense Nernst. Victor Henri a réalisé expérimentalement un dispositif de réaction diastasique dans lequel cette vitesse de diffusion prend aussi une grande importance.

Voici l'expérience: ¹

On fait un mélange de gélatine dialysée à 10 % et d'invertine. Ce mélange est obtenu liquide à 42°, lorsqu'on opère avec de la gélatine chauffée à 100° puis refroidie à 42°; dans ces conditions la gélatine met un temps assez long pour se gélifier et c'est pendant cet intervalle qu'on fait le mélange. On verse cette gélatine contenant le ferment dans un vase à fond large et on laisse gélifier à la température du laboratoire. On verse ensuite une couche mince (1^{mm}) de gélatine pure un peu plus concentrée qui forme ainsi une membrane protectrice. Cette membrane formée on met dans le vase un volume déterminé d'une solution de saccharose pur et on dose de temps en temps la quantité de sucre interverti. On a donc ainsi réalisé un milieu macro-hétérogène.

On voit dans ces conditions que:

1° La vitesse d'inversion est presque proportionnelle à la concentration de la solution en saccharose, tandis que quand on opère en milieu micro-hétérogène (invertine en solution colloïdale dans la solution), la vitesse d'inversion de mêmes teneurs en saccharose 0,1 à 1 normal est indépendante de la concentration.

Voici les chiffres donnés par Victor Henri.

¹ V. HENRI, Comptes rendus Acad. sciences, 8 janvier 1906.

Invertine incluse dans la gélatine :

Saccharose	17 ^g ,1	p. 100	interverti en	41'	3 ^g ,26 ;	en	72'	4 ^g ,1
—	6,84	—	—	39'	1,33 ;	en	75'	2,0

Invertine contenue dans la solution :

Saccharose	17 ^g ,1	p. 100	interverti en	48'	1 ^g ,68 ;	en	86'	3 ^g ,3
—	6,84	—	—	45'	1,56 ;	en	81'	3,0

On voit que l'action de l'invertine est absolument différente dans les deux cas.

Cette différence tient à l'intervention du phénomène de diffusion dans le cas où l'invertine est incluse dans la gélatine, la réaction se décompose alors en deux temps :

α. La vitesse de diffusion du sucre à travers la membrane de gélatine.

β. La vitesse du processus chimique.

Or la vitesse de diffusion est proportionnelle à la concentration en sucre. La vitesse totale variera donc avec la concentration.

2° résultat :

La température influe beaucoup moins sur la vitesse d'inversion lorsque le ferment est contenu dans la gélatine que dans le cas où il est réparti dans le liquide tout entier.

Voici un exemple :

Invertine contenue dans la couche de gélatine :

Saccharose	17 ^g ,1	p. 100	inversion à 25° de	3 ^g ,26	rapport des deux	1 ^g ,4
—	—	—	37° de	4,6		

Invertine contenue dans la solution :

Saccharose	17 ^g ,1	p. 100	inversion à 25° de	1 ^g ,68	rapport des deux	1 ^g ,9
—	—	—	37° de	3,26		

Ce résultat s'explique simplement. On sait en effet qu'une élévation de température de 10° augmente la vitesse d'une réaction chimique du simple au double ; tandis que la vitesse de diffusion se trouve augmentée seulement du quart environ. Par

conséquent dans l'expérience précédente l'élévation de température fait varier beaucoup moins la vitesse de diffusion que la vitesse du processus chimique, il en résulte que dans le cas où le ferment est inclus dans la gélatine la vitesse de diffusion ayant une importance prépondérante la réaction entière sera moins accélérée par cette élévation de température.

Bredig a publié tout récemment un travail dans lequel il compare les vitesses de décomposition de l'eau oxygénée par une lame de platine et par le platine colloïdal et trouve un résultat tout à fait concordant avec celui de V. Henri.

CONSIDÉRATIONS THÉORIQUES SUR L'ACTION DES DIASTASES.

Nous avons dit que les diastases sont des catalysateurs, colloïdaux, spécifiques.

Pour comprendre le mécanisme d'action des diastases il est essentiel de distinguer celles qui agissent sur des corps dissouts, (cristalloïdes) et celles qui agissent sur des colloïdes.

La solution d'une diastase étant formée de granules ultra-microscopiques, la réaction ne se produira qu'au contact de ces granules, c'est-à-dire en certains centres qui seront plus ou moins éloignés suivant la concentration en diastase. Or les granules ultra-microscopiques de l'invertine ont $\frac{1}{10}$ de μ , dans une solution de 1 mmg. pour 50^{cc} la distance qui les sépare est d'environ 3 μ , 6, distance très considérable relativement à leur grandeur. Si l'on veut donner une image d'une pareille solution on peut représenter les granules par des ronds égaux aux o de ce texte et en mettre à peu près 12 dans une page.

Il résulte de ces considérations que pour avoir une action diastasique il faut que la substance à transformer vienne au contact des granules, s'y condense en formant une « zone d'adsorption » et peut être même pénétrer dans le granule. Une action

diastasique se décompose donc en deux processus distincts: d'une part la formation de composés d'adsorption, d'autre part la réaction chimique elle-même qui se passe au contact des granules de la diastase.

Chacun de ces processus se produira avec une certaine vitesse et variera avec tous les facteurs capables de modifier : 1° la réaction chimique ; 2° l'adsorption.

Or on sait que ce dernier phénomène est très complexe. La théorie a d'abord été établie par Gibbs puis reprise récemment par Freundlich, mais elle n'est pas encore entièrement élaborée. Quoiqu'il en soit, on sait que la formation du composé d'adsorption dépend :

- 1° de la nature du corps adsorbant ;
- 2° de la nature du corps dissout ;
- 3° de la température ;
- 4° des actions électriques qui peuvent se produire dans le milieu.

L'ensemble de ces facteurs agit 1° sur la vitesse, 2° sur l'intensité de l'adsorption.

Dans le cas des diastases agissant sur les cristalloïdes, la vitesse d'adsorption est très grande et par conséquent ce processus n'interviendra pas dans la vitesse de la réaction diastasique totale.

Mais pour les diastases qui agissent sur des colloïdes, l'adsorption de ce colloïde par les granules diastasiques se produira lentement ; donc la vitesse d'adsorption sera très importante. Cette vitesse d'adsorption sera à son tour fonction de la diffusion, phénomène physique dont on peut calculer la grandeur, lorsqu'on connaît le coefficient de diffusion du corps et la surface des granules diastasiques.

2° Relativement à l'intensité de l'adsorption on sait que les poudres et les colloïdes adsorbent les corps dissouts avec une

intensité qui dépend de la *nature* des corps adsorbés et de la concentration de la solution.

Par exemple si l'on met de la poudre de charbon dans une solution d'acide succinique à 2 p. 1000, la concentration de cet acide dans la zone d'adsorption formée autour de chaque grain est environ 100 fois plus forte que dans le liquide environnant ; l'adsorption est donc ici très intense. Pour l'acide acétique elle est environ dix fois plus faible, pour le chlorure de sodium presque insignifiante.

La concentration dans la zone d'adsorption augmente avec la concentration de la solution mais non proportionnellement à celle-ci.

La loi générale de l'adsorption s'exprime par la formule mathématique suivante :

$$C_1 = KC_2^\alpha$$

C_1 et C_2 sont la concentration du corps adsorbé dans le liquide intergranulaire et dans la zone d'adsorption, α est un nombre toujours plus grand que l'unité, K est une constante.

Enfin il résulte des recherches sur les colloïdes que l'intensité de l'adsorption d'un corps par un colloïde donné est modifiée d'une façon très intense par les électrolytes, certains l'augmentent, d'autres la diminuent, et peuvent même la rendre négative.

Parmi les électrolytes les plus actifs sont les acides et les alcalis. On sait combien les diastases sont sensibles à l'action de faibles doses de ces mêmes électrolytes, il est donc naturel d'attribuer pour une large part cette action des acides et des bases sur les phénomènes diastasiques à des modifications de l'adsorption.

La vitesse du processus chimique dépend de la concentration à laquelle se trouve le corps à transformer dans les centres d'action, c'est-à-dire dans la zone d'adsorption. Elle sera donc pro-

portionnelle à C_2 . On s'explique ainsi la loi qui relie la concentration en diastase à la concentration du corps à transformer.

En résumé, le fait que les diastases sont des colloïdes, nous amène à la nécessité d'introduire dans la théorie de leur action les phénomènes d'adsorption et par ceux-ci se trouvent expliqués les cas particuliers obtenus avec ces catalysateurs de nature spéciale.

La théorie des diastases qui agissent sur des colloïdes n'a jamais été faite jusqu'ici. Pour que la réaction puisse se produire il faut qu'il y ait formation de complexes colloïdaux entre la diastase et les granules du colloïde.

Ces complexes se produisent très généralement lorsqu'on mélange des colloïdes de même signe ou de signe opposé; leur formation dépend de la concentration des colloïdes, et peut être favorisée ou empêchée par l'addition d'électrolytes appropriés, ainsi que l'ont montré Larguier des Bancels et d'autres auteurs. On doit donc s'attendre à ce que l'action des diastases sur un colloïde soit très sensible aux électrolytes, ce que nous avons vu à propos de l'amylase en particulier.

La loi d'adsorption des colloïdes les uns par les autres est la même que celle de l'adsorption d'un cristalloïde par un colloïde. Ce fait résulte nettement des recherches de Biltz et d'autres auteurs sur l'adsorption des couleurs colloïdales par la soie, la laine et le coton.

On comprend ainsi la généralité de la loi qui relie la concentration du corps à transformer à la vitesse de la réaction, la concentration dans la zone d'adsorption étant la même — toutes choses égales d'ailleurs — que le corps absorbé soit un colloïde ou un cristalloïde.

Quant à l'action retardatrice des produits de la réaction nous pensons qu'elle doit être rapportée à une modification de l'adsorption.

La théorie que nous présentons se distingue donc de toutes celles qui l'ont été précédemment dans lesquelles on a toujours considéré les diastases comme des catalysateurs agissant en milieu homogène. La diastase étant colloïdale la réaction se produit sûrement en milieu micro-hétérogène.

Cette théorie se distingue en outre de celles de Nernst et Hertzog en ce que ces auteurs tout en considérant l'hétérogénéité du milieu, ne tiennent pas compte des phénomènes d'adsorption, qui ont un rôle de premier ordre.

Il est évident que cette théorie que nous présentons n'est pas définitive, mais elle nous a amené à envisager le problème des actions diastasiques sous un jour nouveau ; par là elle a ouvert tout un champ d'investigations directement abordables par l'expérience et qui doivent être maintenant poursuivies. Il n'est pas douteux d'ailleurs que ces expériences n'amènent à une connaissance profonde du mécanisme de ces actions diastasiques, si particulièrement intéressantes puisqu'elles sont intimement liées à tous les phénomènes de la Vie.

2° THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

BOTANIQUE. — Réserves à Amidon chez les végétaux.

GÉOLOGIE. — Caractères paléontologiques et stratigraphiques de la période Cambrienne.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 23 mai 1907.

Le Doyen de la Faculté des sciences,

Signé : P. APPELL.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,

Signé : L. LIARD.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
PRÉFACE	1
CHAP. I. — INTRODUCTION GÉNÉRALE.	4
DÉVELOPPEMENT DES CONNAISSANCES SUR LES FERMENTS SOLUBLES	4
§ 1. — Les diastases sont des catalyseurs	6
§ 2. — Les diastases sont des colloïdes	9
§ 3. — Les diastases sont spécifiques	13
BUT DU TRAVAIL	16
CHAP. II. — RECHERCHES SUR LA MALTASE.	18
HISTORIQUE	18
MÉTHODE EXPÉRIMENTALE	19
RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX	22
§ 1. — Constance du ferment	22
§ 2. — Influence de la concentration du ferment	28
§ 3. — Influence de la concentration en maltase	29
§ 4. — Influence des produits de la réaction	30
§ 5. — Etude de la loi de vitesse de la réaction	33
RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX	35
§ 1. — Etude empirique de la loi d'action de la maltase	37
§ 2. — Application de la formule de Bodenstein à l'étude de la maltase	41
RÉSULTATS NUMÉRIQUES	42
CONCLUSIONS DES RECHERCHES SUR LA MALTASE.	50
CHAP. III. — RECHERCHES SUR L'AMYLASE	52
HISTORIQUE	52
§ 1. — Etudes sur la constitution des empois d'amidon	52
§ 2. — Influence des électrolytes sur l'action des diastases	55
§ 3. — Recherches sur la loi d'action de l'amylase	59
§ 4. — Position de la question	60

	Pages.
CHAP. IV. — MÉTHODE EXPÉRIMENTALE POUR L'ÉTUDE DE L'AMYLASE.	61
RÉSULTATS	63
§ 1. — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN AMIDON ET EN GLYCOGÈNE	63
1 ^o Influence de la concentration en amidon.	63
2 ^o Influence de la concentration en glycogène	69
CHAP. V. — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN DIASTASE.	72
§ 1. — Influence de la concentration en amylase « diastase absolue » sur la vitesse d'hydrolyse de l'amidon	74
§ 2. — Influence de la concentration en amylase « diastase absolue » du malt sur la vitesse d'hydrolyse du glycogène	79
CHAP. VI. — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN AMYLASE SUR LA QUANTITÉ D'AMIDON ET DE GLYCOGÈNE HYDROLYSABLES	84
§ 1. — Influence de la concentration en amylase « diastase absolue » sur la quantité d'amidon hydrolysable	84
§ 2. — Influence de la concentration en amylase « diastase absolue » du malt sur la quantité de glycogène hydrolysable	87
CHAP. VII. — LOI D'ACTION DE L'AMYLASE	95
§ 1. — Loi de la vitesse d'hydrolyse de l'amidon par « diastase absolue »	95
§ 2. — Loi de la vitesse d'hydrolyse par la « Diastase Taka »	101
CHAP. VIII. — TABLE DES RÉSULTATS	105
CHAP. IX. — DISCUSSION DE LA LOI D'ACTION DE L'AMYLASE	111
EXPÉRIENCES POUR LA DISCUSSION DE LA LOI D'ACTION DE L'AMYLASE	115
§ 1. — Interruption de la réaction au cours de l'hydrolyse	115
§ 2. — Ebullition des solutions d'amidon	117
PRÉCIPITATION DE LA SOLUTION D'AMIDON PAR L'ADDITION DE DIASTASE	120
CHAP. X. — COMPARAISON DE L'ACTION DE L'AMYLASE DU MALT ET DU SUC PANCRÉATIQUE SUR L'AMIDON ET LE GLYCOGÈNE	123
§ 1. — Action du l'amylase du malt « diastase absolue »	123
§ 2. — Action du suc pancréatique	126

	Pages.
CHAP. XI. — DISCUSSION GÉNÉRALE SUR LES LOIS D'ACTION DES DIASTASES	129
RÉSULTATS DES ÉTUDES SUR L'AMYLASE ET LA MALTASE	129
§ 1. — Influence de la concentration en substance à trans- former	129
§ 2. — Influence de la concentration en diastase sur la vi- tesse initiale de l'hydrolyse	130
§ 3. — Influence sur la quantité de substance hydrolysable	131
§ 4. — Constance du ferment	132
§ 5. — Loi d'action	132
COMPARAISON AVEC LES RÉSULTATS OBTENUS DANS L'ÉTUDE D'AUTRES FERMENTS	133
LOI D'ACTION. INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN SUBSTANCE A TRANSFORMER	134
INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN FERMENT	137
CONSTANCE DU FERMENT	137
THÉORIES PROPOSÉES POUR EXPLIQUER L'ACTION DES DIASTASES . . .	138
CONSIDÉRATIONS THÉORIQUES SUR L'ACTION DES DIASTASES	148

